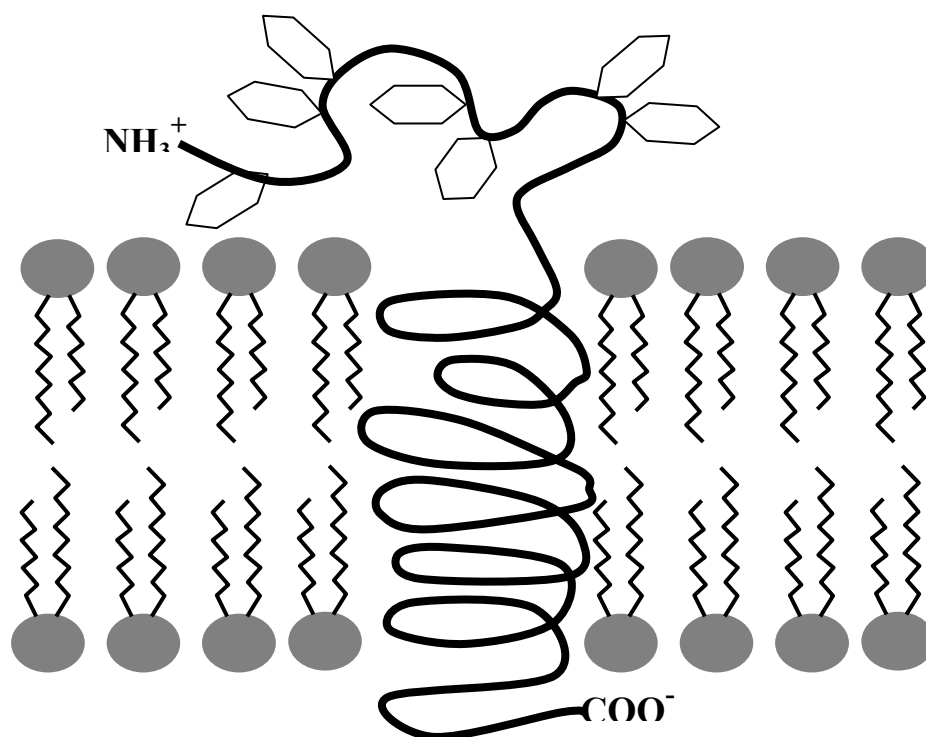


МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

# БИОХИМИЧЕСКАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН

*Для студентов фармацевтического факультета*



Хабаровск  
2001

УДК 577.1

**Составители:** д. м. н., профессор В. В. Поступаев  
к. м. н., доцент Е. Г. Рябцева

**Рецензенты:** зав. кафедрой биохимии Амурской государственной  
медицинской академии д. м. н., профессор Е. А. Бородин  
зав. кафедрой биохимии Владивостокского государственного  
медицинского университета д. м. н., профессор М. А. Хасина

В учебном пособии приведены сведения о химическом составе, свойствах и функциях клеточных мембран, включая механизмы мембранного транспорта, рецепции сигнальных молекул. Рассматриваются наиболее типичные примеры мембранной патологии и принципы коррекции этих состояний.

Учебное пособие предназначено для самостоятельной подготовки студентов фармацевтического факультета очной и заочной форм обучения.

## Предисловие

Первые представления о строении мембран были сформулированы Д. Даниелли и П. Доусоном в 1931-1933 гг. Появление таких методов исследования как электронная микроскопия, спектроскопия, электронный парамагнитный резонанс и других позволило во второй половине двадцатого столетия получить огромный экспериментальный материал и обосновать представление о структурно-функциональной организации биологических мембран и их роли в патогенезе различных заболеваний.

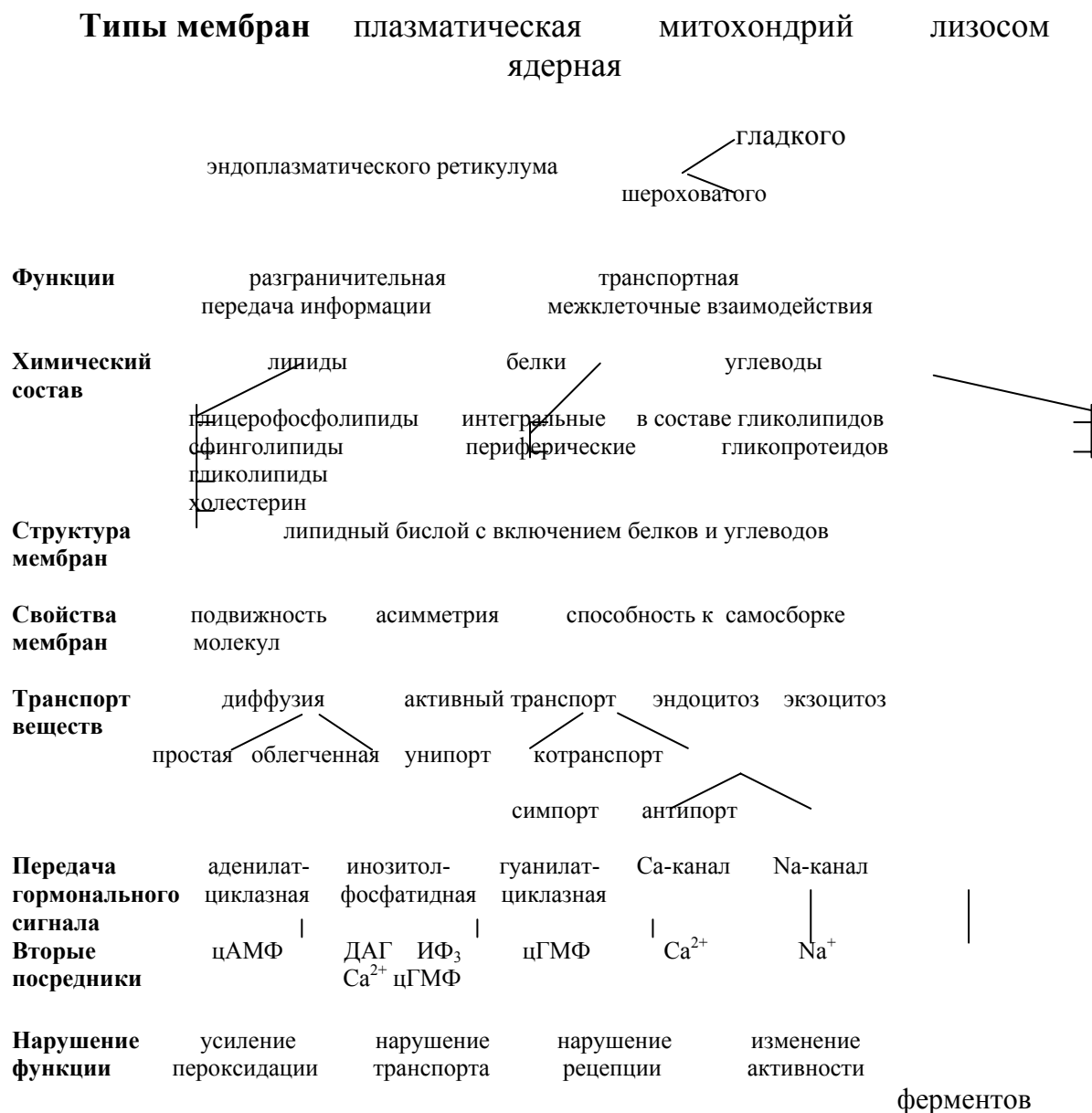
Биологические функции мембран весьма разнообразны: они отграничивают содержимое клетки от окружающей среды; делят клетку на отсеки – компартменты, обеспечивают направленный транспорт различных веществ, создавая градиенты их концентраций; участвуют в реализации специальных функций клеток (рецепция гормональных сигналов, генерация нервного импульса, сокращение и расслабление мышц, преобразование одного вида энергии в другой); контролируют взаимодействие клеток с факторами окружающей среды и друг с другом.

Исследования последних десятилетий позволили вскрыть повреждения мембранных структур в процессе старения, мутагенеза, канцерогенеза, а также показать роль структурно-функциональной дезорганизации мембран в патогенезе различных заболеваний.

**Мотивация изучения биохимических мембран:** Знание химического состава и свойств мембран необходимо для понимания их ключевой роли в структурной организации и функционировании всех клеток, а также является важным при определении принципов коррекции мембранной патологии. В учебной литературе для студентов фармацевтического факультета этот вопрос освещен крайне недостаточно.

**Цель** предлагаемого учебного пособия: сформировать у студентов представления об особенностях химического состава, структуры и функций клеточных мембран, ознакомить студентов с примерами типичной мембранной патологии, лежащей в основе ряда заболеваний, и принципами коррекции этих состояний.

## Граф логической структуры темы



## ТИПЫ БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕМБРАН И ИХ ФУНКЦИИ

Каждая клетка содержит несколько мембран, которые различаются по своим функциям.

### I. Плазматическая мембрана:

1. Отграничивает клетку от окружающей среды;
2. Регулирует поток веществ в клетку и из клетки;
3. Обеспечивает узнавание гормонов, медиаторов, ксенобиотиков (рецепция);
4. Участвует в образовании межклеточных контактов.

## **II. Мембрана эндоплазматического ретикулума**

### **а) Гладкого:**

1. Обеспечивает инактивацию биологически активных веществ;
2. Участвует в детоксикации ядовитых веществ;
3. Участвует в синтезе фосфолипидов, стероидов, полисахаридов.

### **б) Шероховатого:**

1. Служит местом прикрепления рибосом и синтеза белков;
2. Транспортирует синтезированные белки в различные отделы клетки.

## **III. Мембрана аппарата Гольджи:**

1. Участвует в образовании фрагментов плазматической мембраны, лизосом, секреторных гранул;
2. Обеспечивает хранение и секрецию упакованных белков и биологически активных веществ.

## **IV. Мембрана митохондрий:**

1. Отграничивает матрикс митохондрий, содержащий ферменты общего пути катаболизма, окисляющие жирные кислоты, пируват, ацетил-КоА, аминокислоты;
2. Содержит ферменты цепи переноса протонов и электронов, окисления сукцината, осуществляет сопряжение процессов окисления и фосфорилирования (синтез АТФ).

## **V. Мембрана лизосом:**

1. Отграничивает ферменты-гидролазы от цитозоля, препятствуя аутолизу клетки;
2. Обеспечивает поддержание кислой среды (рН 5), необходимой для действия гидролаз;
3. Участвует в процессах эндоцитоза (фагоцитоза).

## **VI. Ядерная мембрана:**

1. Отграничивает генетический материал клетки (ДНК) от цитозоля;
2. Регулирует поток нуклеотидов в ядро, РНК в цитозоль.

## **ОСОБЕННОСТИ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА И СТРУКТУРЫ МЕМБРАН**

Мембраны состоят в основном из липидов и белков (1:1), небольшого количества углеводов (5-10%), воды (до 10%) и минорных компонентов – убихинона, витаминов Е, А, Д.

**Липиды мембран** представлены фосфолипидами (до 60%), холестерином (около 10-20%), причем соотношение их зависит от типа мембраны.

Жирные кислоты, входящие в состав мембранных липидов, содержат четное число углеродных атомов. Среди этих кислот наиболее часто встречаются:

**а) Насыщенные:**

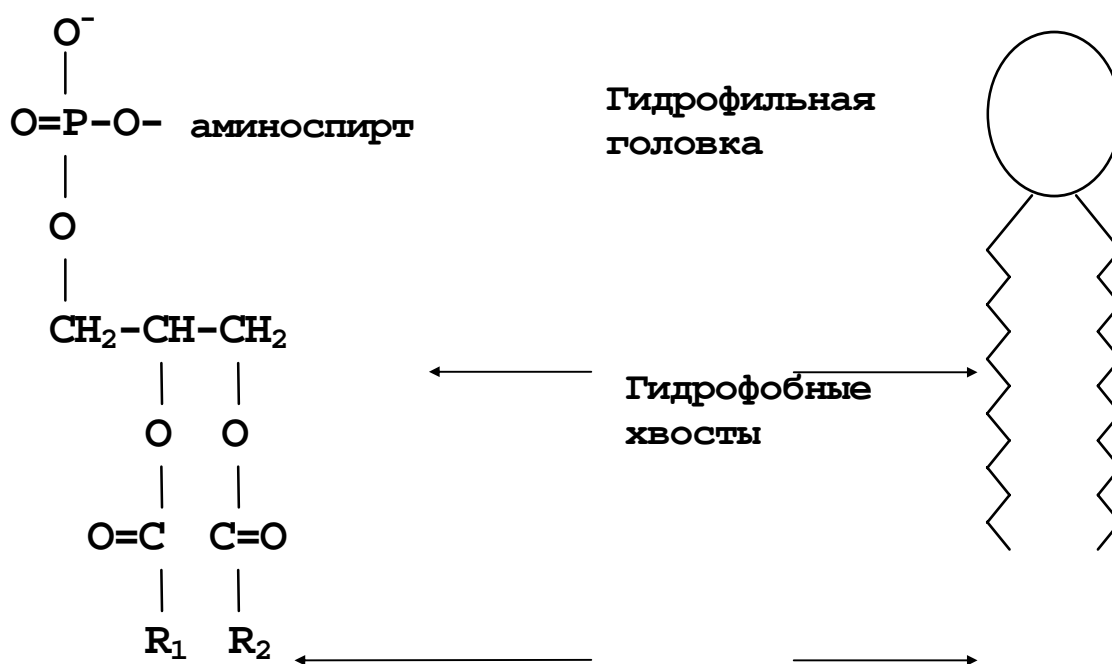
пальмитиновая –  $C_{16:0}$   
 стеариновая –  $C_{18:0}$   
 лигноцериновая –  $C_{24:0}$

**б) Ненасыщенные:**

пальмитоолеиновая –  $C_{16:1}(7)$   
 олеиновая –  $C_{18:1}(9)$   
 нервоновая –  $C_{24:1}(9)$   
 линолевая –  $C_{18:2}(9,12)$   
 линоленовая –  $C_{18:3}(9,12,15)$   
 арахидоновая –  $C_{20:4}(5,8,11,14)$

Цифры указывают количество углеродных атомов и число двойных связей, а также их положение (в скобках).

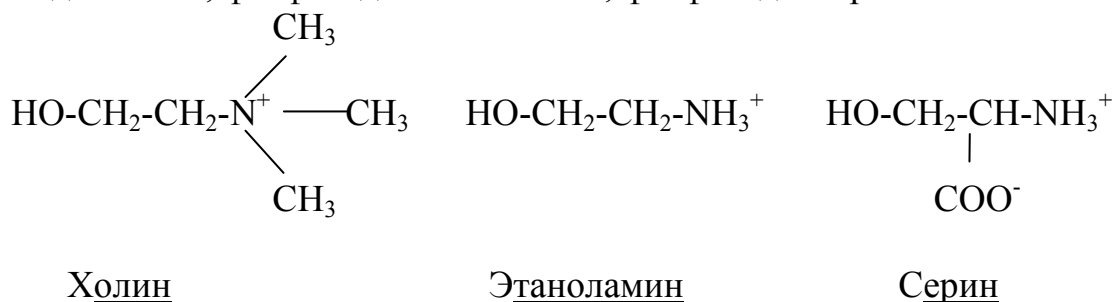
**Глицерофосфолипиды** в своем составе содержат спирт глицерин, два остатка жирных кислот, остаток фосфорной кислоты и аминоксирт (реже циклический спирт инозитол). Гидрофильные (полярные) группировки имеют заряд и образуют головку молекулы, а углеводородные цепи кислот (неполярные) – ее гидрофобные «хвосты».



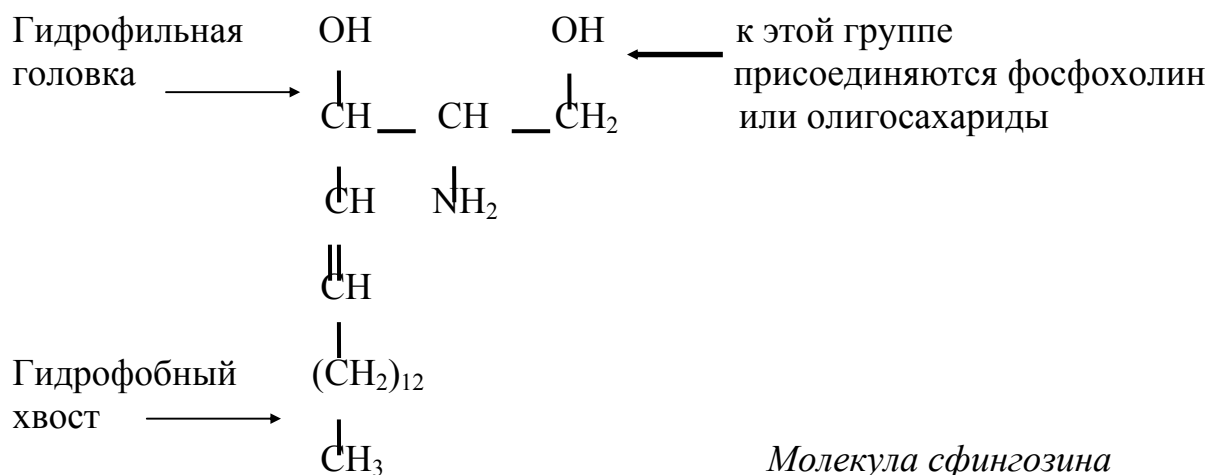
*Молекула глицерофосфолипида*

Как правило, первая жирная кислота в молекуле фосфолипида насыщенная, а другая – ненасыщенная.

В качестве аминоспирта в молекулах фосфолипидов могут быть холин или серин, что определяет название фосфолипидов – фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилсерин.

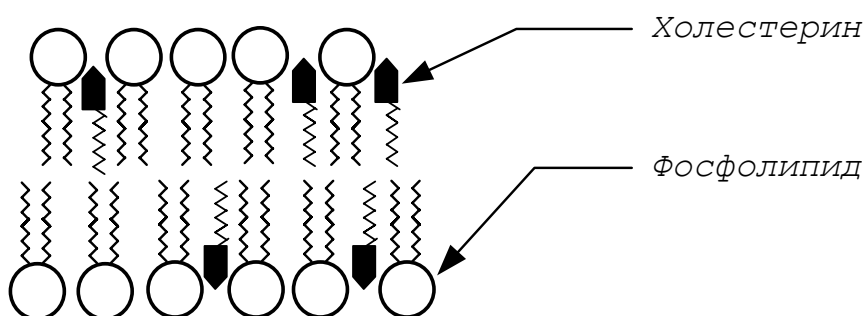
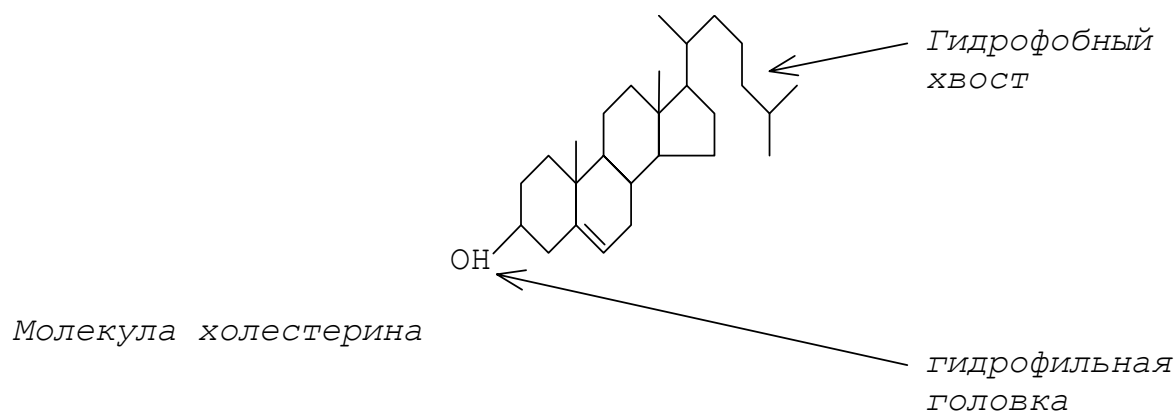


Другим типом фосфолипидов являются **сфинголипиды**, которые в качестве спирта содержат сфингозин. К нему может присоединяться остаток жирной кислоты (такое соединение называется **церамид**), а также фосфохолин (тогда это будет **сфингомиелин**), галактоза (образуются **цереброзиды**) или олигосахариды (образуются **ганглиозиды**). Последние два соединения относятся к **гликолипидам**.



Молекулы сфинголипидов также, как и глицерофосфолипиды, содержат гидрофильную головку и гидрофобные хвосты, то есть обладают амфифильностью (двойственностью свойств).

В присутствии воды молекулы фосфолипидов образуют **двойной слой (бислой)**, причем гидрофильные головки обращены к воде, а гидрофобные хвосты друг к другу (рис.1). В «изгибах», образованных за счет цис-конфигурации остатков ненасыщенных жирных кислот, располагаются молекулы холестерина.



**Рис. 1. Строение липидного бислоя биологических мембран**

Двойной липидный слой служит матрицей для других молекул мембраны, а также он создает барьер проницаемости для ионов и полярных соединений.

Различные мембраны клеток имеют отличия в составе липидов (табл.1).

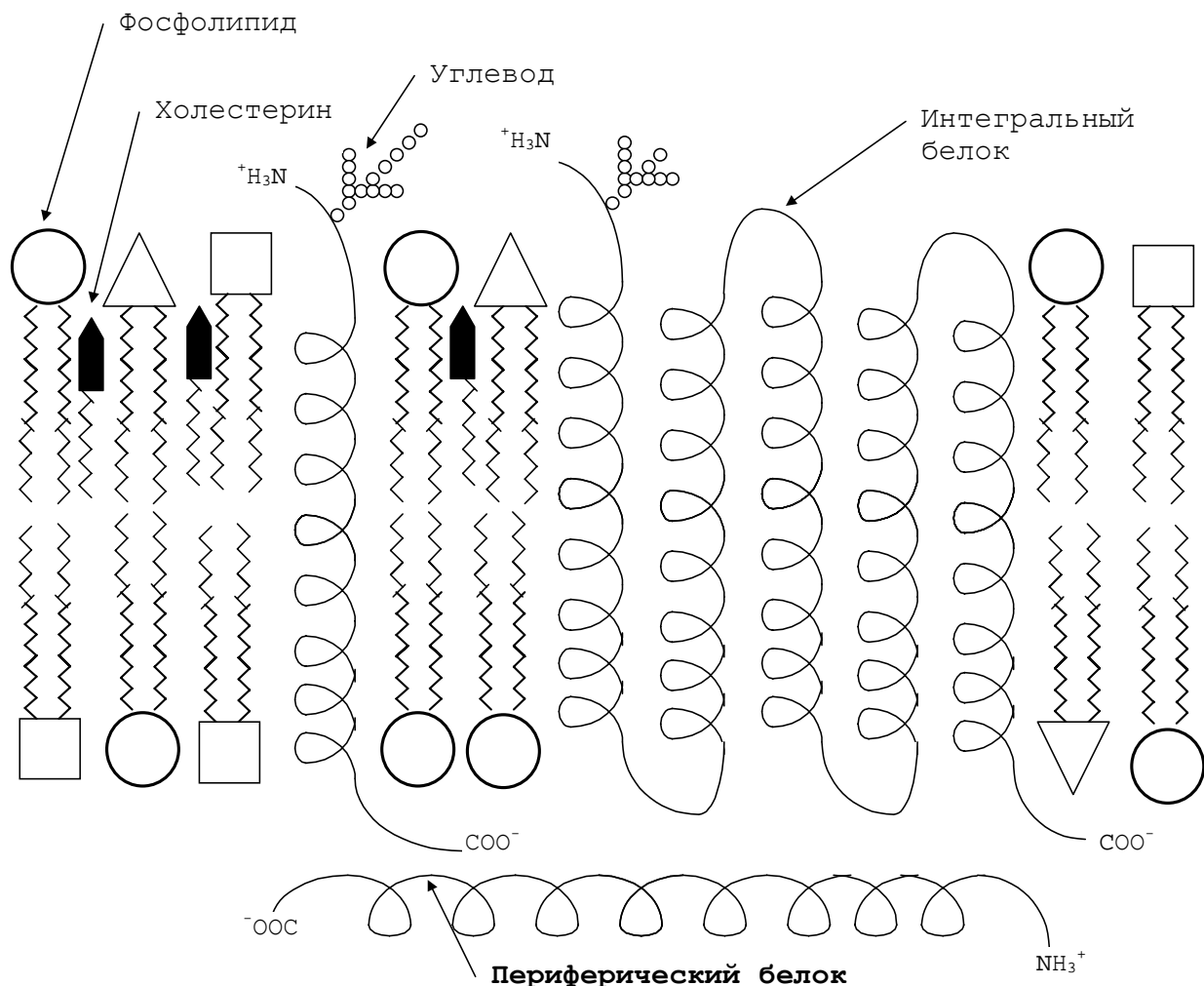
Таблица 1

**Примерный липидный состав мембран (в %)**

Липид	Мембрана гепатоцита	Мембрана эритроцита	Миелин	Наружная и внутренняя мембрана митохондрии	Эндоплазматический ретикулум
Фосфатидилхолин	24	17	10	39	40
Фосфатидил-этаноламин	7	18	15	35	17
Фосфатидилсерин	4	7	9	2	5
Фосфатидилнозит	9	2	0	8	9
Сфингомиелин	19	18	8	0	5
Холестерин	17	23	22	3	6
Гликолипиды	7	3	28	следы	следы
Другие липиды	13	11	8	13	18



**Белки мембран.** Белки легко встраиваются в фосфолипидный бислой (рис.2) и удерживаются в нем за счет гидрофобных взаимодействий неполярных группировок аминокислот с остатками жирных кислот. Гидрофильные области белка образуют электростатические связи с полярными головками фосфолипидов и определенным образом ориентированы в бислой. По типу расположения белка в фосфолипидном бислое различают *интегральные* и *периферические* белки. Участки интегральных белков, имеющие гидрофобные аминокислоты погружены в бислой глубоко и могут пересекать его. Это могут быть транспортные белки, ферменты, рецепторы и регуляторные белки. «Заякоривание» периферических белков происходит с помощью водородных связей и ионных взаимодействий. Этому способствует также наличие в периферическом белке остатка жирной кислоты или олигосахарида, которые внедряются в липидный бислой и служат своеобразным якорем.



**Рис. 2. Схема строения мембраны**

Различные мембраны характеризуются определенным составом ферментов, некоторые из них могут быть использованы как маркеры мембран при их выделении и очистке. Так, например, ферментными маркерами плазматической мембраны являются – 5-нуклеотидаза, аденилатциклаза или  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФаза; эндоплазматического ретикулума – глюкозо-6-фосфатаза; комплекса Гольджи – галактозилтрансфераза.

**Углеводы мембран** не встречаются в свободном виде. Они связаны либо с белками, образуя гликопротеины, либо с липидами – гликолипиды. В основном это олигосахариды, мономерами которых являются глюкоза, галактоза, глюкозамин, глюкуроновая и ацетилнейраминовая (сиаловая) кислоты.

Углеводный компонент необходим для рецепции сигнальных молекул (гормонов, нейромедиаторов), обеспечения межклеточных контактов, а также иммунных свойств клетки.

**Вода** как компонент мембраны создает водную фазу, которая необходима для образования двойного фосфолипидного слоя. Часть молекул воды связана с полярными группировками фосфолипидов, белков и углеводов.

**Современная концепция структуры мембран** сформулирована С. Сингером и Дж. Николсоном в 1972. Согласно их жидко-кристаллической (мозаичной) модели фосфолипиды располагаются в виде непрерывного двойного слоя, в котором «плавают» молекулы интегральных и периферических белков (рис. 2). Холестерин и жирорастворимые витамины (А, Д, Е) встраиваются в гидрофобную область мембраны и влияют на ее текучесть и проницаемость. Холестерин увеличивает микровязкость бислоя, регулирует фазовые переходы и фазовое состояние липидов. Содержание ненасыщенных жирных кислот способствует поддержанию мембран в текучем, жидко-кристаллическом состоянии. Несмотря на то, что липидный бислой является жидкой структурой, подвижность ее компонентов ограничена, то есть структура мембраны упорядочена. Между белками и фосфолипидами существуют электростатические и гидрофобные взаимодействия, за счет которых в пределах мембраны формируются кластеры – особые структурно-функциональные участки.

Физико-химические свойства мембран.

Важным свойством мембран является **подвижность ее компонентов**: внутримолекулярная, в пределах слоя, в пределах мембраны (движение кластеров). Белковые и фосфолипидные молекулы мембран обладают латеральной диффузией, вращательными движениями вокруг вертикальной и горизонтальной оси. Крайне редко фосфолипиды могут переходить из одного слоя в другой («перескок» или «флип-флоп»).

Подвижность белковых молекул зависит от микровязкости липидного окружения, определяемой составом липидов.

Еще одна особенность мембраны – **асимметрия бислоя**. Она проявляется в том, что на наружной поверхности мембраны в основном присутствуют фосфатидилхолин и сфинголипиды, а на внутренней – фосфатидилэтаноламин и фосфатидилсерин. На наружной части мембраны чаще располагаются рецепторные белки, на внутренней – регуляторные. Углеводы размещаются только на наружной поверхности плазматической мембраны и, наконец, с наружной стороны мембраны находятся ионы натрия, а с внутренней – ионы калия. Асимметрия бислоя – это фактор, обеспечивающий создание градиента кривизны, складок, отшнуровки частей мембраны в виде везикул, что существенно для межклеточных взаимодействий. К ферментам, поддерживающим и создающим асимметрию мембран, относятся метилтрансферазы I и II. Метилтрансфераза I находится на внутренней поверхности мембраны, под влиянием фермента фосфатидилэтаноламин переходит в монометилфосфатидилэтаноламин. Эта молекула перемещается на внешнюю сторону, где заканчивается ее метилирование под действием метилтрансферазы II, и образуется фосфатидилхолин. Реакция метилирования контролирует микровязкость и градиент гибкости бислоя, а значит – функции различных мембранных белков.

**Самосборка мембран.** Если разрушить структуру мембраны – провести солюбилизацию мембранных фосфолипидов детергентом, а затем удалить детергент, то гидрофобные взаимодействия ее компонентов между собой и гидрофильные – с водой приведут к восстановлению структуры мембраны, соответствующей минимуму свободной энергии. Однако, при этом нарушается асимметрия мембран.

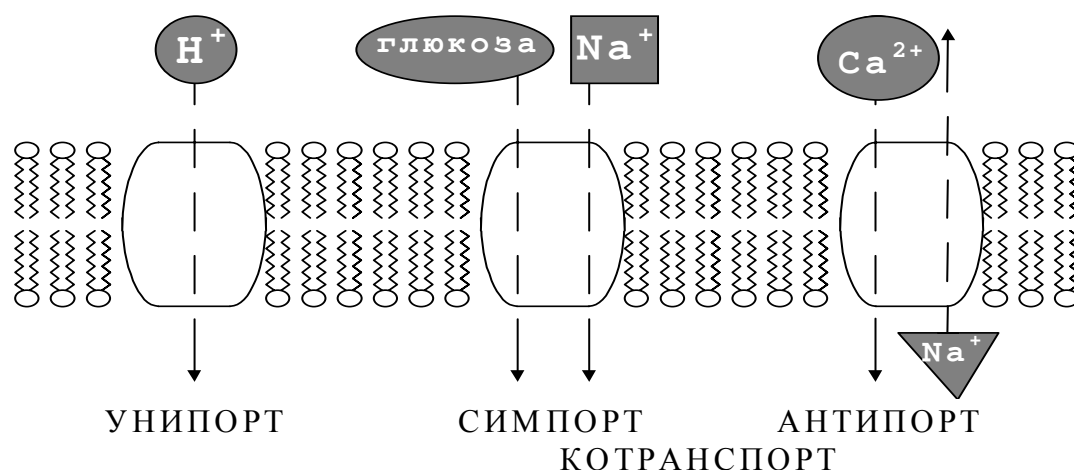
**Модификация мембран.** Модификация мембраны сопровождается изменением градиента гибкости, микровязкости и подвижности компонентов. Эта модификация может происходить под действием ферментов – деметилаз и фосфолипаз. Под действием деметилазы снижается соотношение фосфатидилхолин/фосфатидилэтаноламин; под действием фосфолипаз отщепляется один остаток жирной кислоты, в результате чего образуются лизоформы фосфолипидов и накапливаются свободные жирные кислоты в бислое. Жирные кислоты обладают детергентным действием, поэтому связи между белками и липидами ослабевают. На микровязкость мембран влияет также соотношение холестерина и фосфолипидов.

Транспорт веществ через мембрану

Благодаря наличию мембран, обладающих избирательной проницаемостью, поддерживается постоянство среды в клетке, как в цитоплазме, так и в органеллах, то есть обеспечивается постоянство высоких концентраций необходимых веществ и ограничивается

поступление чужеродных веществ, не участвующих в процессах жизнедеятельности. Для поддержания различных процессов метаболизма необходимо непрерывное поступление в клетку специфических субстратов и одновременное выведение из нее продуктов метаболизма. Таким образом, мембраны одновременно выполняют две функции: барьерную, благодаря которой клетка защищена от поступления чужеродных веществ, и транспортную, обеспечивающую поступление в клетку необходимых для ее функционирования веществ и ионов.

Молекулы транспортируемых веществ или ионы металлов могут переноситься через мембрану независимо от наличия и переноса других соединений – это **унипорт**, их перенос может осуществляться одновременно и однонаправленно с другими соединениями – **симпорт** и, наконец, транспорт может быть обусловлен одновременным и противоположно направленным переносом другого соединения – **антипорт** (рис.3).



**Рис. 3. Способы переноса через мембрану**

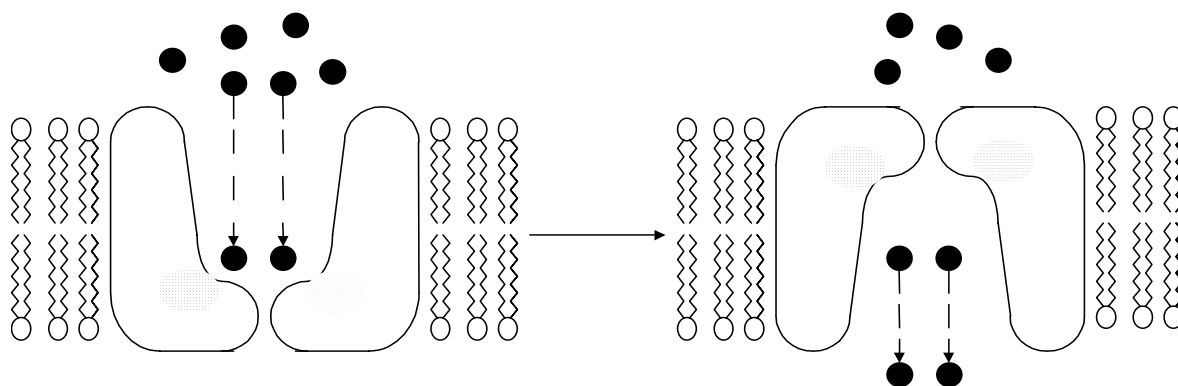
Возникают два важных вопроса: как молекулы проходят мембрану, чтобы проникнуть в клетку, и какова избирательность этого процесса? Имеются три главных механизма, которые обеспечивают эти процессы: а) диффузия; б) активный транспорт; в) эндоцитоз. Трансмембранное перемещение малых молекул осуществляется первыми двумя путями.

**Диффузия.** Некоторые небольшие нейтральные молекулы, а также газы могут поступать в клетку путем диффузии через мембрану из зоны с большей концентрации в зону с меньшей, то есть по электрохимическому градиенту без затрат метаболической энергии. Скорость **простой диффузии** вещества через мембрану не ограничена и пропорциональна растворимости этого вещества в гидрофобной зоне мембранного бислоя. Состояние жидкостности мембраны может существенно влиять на

диффузию веществ (даже таких, как вода) через мембрану. Скорость диффузии обратно пропорциональна числу водородных связей, которые должны быть разрушены для того, чтобы вещество перешло из внешней водной фазы в гидрофобный бислой. Электролиты слабо диффундируют через мембрану по этой причине, и чем больше величина их заряда, тем меньше скорость диффузии. В мембранах имеются трансмембранные каналы или подобные порам структуры, образующие ион-проводящие пути. Так, мембраны нервных клеток содержат хорошо изученные **ионные каналы**, которые обуславливают потенциал действия, генерируемый в мембране. Некоторые микробные пептиды образуют ионные каналы, или **ионофоры**, которые функционируют как челноки для перемещения ионов через мембраны.

Метаболические разобщители, такие как динитрофенол, функционируют наподобие челноков для транспорта протонов через мембраны митохондрий, тем самым, нарушая протонный градиент, необходимый для образования АТФ. Микробные токсины, такие как токсин дифтерии, а также активированные компоненты системы комплемента сыворотки крови могут генерировать образование больших пор в клеточной мембране, что позволяет макромолекулам непосредственно проходить внутрь клетки или органелл. Перенос путем простой диффузии продолжается до исчезновения градиента концентраций или электрических потенциалов.

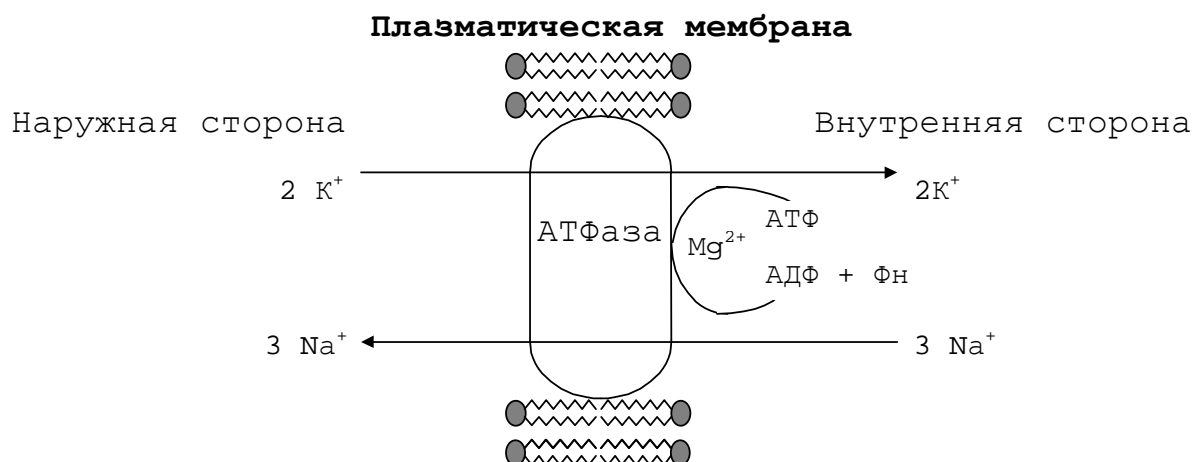
Некоторые специфические вещества диффундируют через мембрану по электрохимическому градиенту быстрее, чем это можно было ожидать, исходя из их размеров. Их диффузия является **облегченной** и характеризуется свойствами, отличными от свойств простой диффузии. При облегченной диффузии число участков мембраны, вовлекаемых в диффузию растворенных веществ ограничено, поэтому скорость диффузии также ограничена. Система облегченной диффузии не требует никакой метаболической энергии, и осуществляется специфическими интегральными белками-переносчиками (транслоказы и пермеазы). При взаимодействии транспортируемой молекулы с активным центром белка – переносчика изменяется конформация его субъединиц, что позволяет молекуле проходить через мембрану, в которой открывается гидрофильный белковый канал (рис.4).



**Рис. 4. Схема транспорта молекулы путем облегченной диффузии. Изменение конформации белковых субъединиц обеспечивает транспорт молекул.**

**Активный транспорт.** Процесс активного транспорта отличается от диффузии потребностью в непрерывном обеспечении энергией (за счет гидролиза АТФ, переноса электронов или энергии света) и перемещением молекул против электрохимического градиента. Причем, путь транспорта молекул против электрохимического градиента в биологических системах является настолько важным, что на этот процесс расходуется до 40% потребляемой человеком в покое энергии.

Примером активного транспорта может служить так называемый *натриевый насос*. Обычно животные клетки поддерживают низкую внутриклеточную концентрацию ионов натрия и высокую внутриклеточную концентрацию калия. Эти градиенты поддерживаются специфическим ионным насосом – ферментом  $Na^+, K^+$ -аденозинтрифосфатазой (АТФаза), которая активируется этими ионами. АТФаза является интегральным мембранным белком, и для проявления ее активности необходимы фосфолипиды. АТФазная каталитическая активность проявляется при взаимодействии этого фермента как с АТФ, так и с ионами натрия на цитоплазматической стороне мембраны тогда, как связывающий ионы калия центр находится на наружной стороне мембраны. Для транспорта ионов через мембрану требуется энергия, источником которой служит АТФ. На каждую молекулу АТФ, гидролизованного до АДФ и неорганического фосфата, из клетки выходят три иона натрия, а два иона калия поступают в нее из окружающей среды. Этот транспорт сопровождается конформационными изменениями АТФазы и включает два этапа. На первом этапе молекула АТФазы фосфорилируется под действием АТФ, и это позволяет ей присоединять ионы натрия. На втором этапе присоединяются ионы калия, следствием чего является перенос ионов натрия через мембрану с отщеплением свободного фосфата, поступающего в цитозоль (рис.5).



**Рис. 5. Схема, поясняющая действие  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  - АТФазы.**

Это ведет к появлению электрического потенциала, называемого трансмембранным электрохимическим потенциалом. Поскольку ионы натрия и калия способны к простой диффузии, то в связи с этим для поддержания потенциала натриевый насос должен работать непрерывно. Сердечные гликозиды (например, строфантин), блокируют этот насос при введении их во внеклеточную среду.

Трансмембранное перемещение крупных молекул осуществляется путем эндоцитоза и экзоцитоза.

**Эндоцитоз** является транспортным процессом, который позволяет извлекать (интернализировать) внеклеточные вещества таким образом, что при этом происходит образование эндоцитозных везикул (пузырьков). Последние образуются за счет впячивания (инвагинация) сегмента плазматической мембраны с захватом как внеклеточных молекул, так и незначительного объема жидкости. Затем этот сегмент мембраны отшнуровывается, образуя изолированную везикулу (рис.6). В образовании эндоплазматических везикул принимает участие специфический белок - **клатрин**, который локализован на цитоплазматической стороне мембраны в месте эндоцитозного впячивания («окаймленная ямка»). Затем везикулы сливаются с лизосомами и образуют вторичные лизосомы (эндосомы), в которых при участии лизосомальных гидролитических ферментов происходит разрушение биополимеров (белков, нуклеиновых кислот, полисахаридов, липопротеидов) до более простых соединений – аминокислот, моносахаридов, нуклеотидов и др. Эти молекулы могут вновь использоваться клеткой для синтеза новых соединений, подвергаться катаболизму или же выводиться из нее путем экзоцитоза.

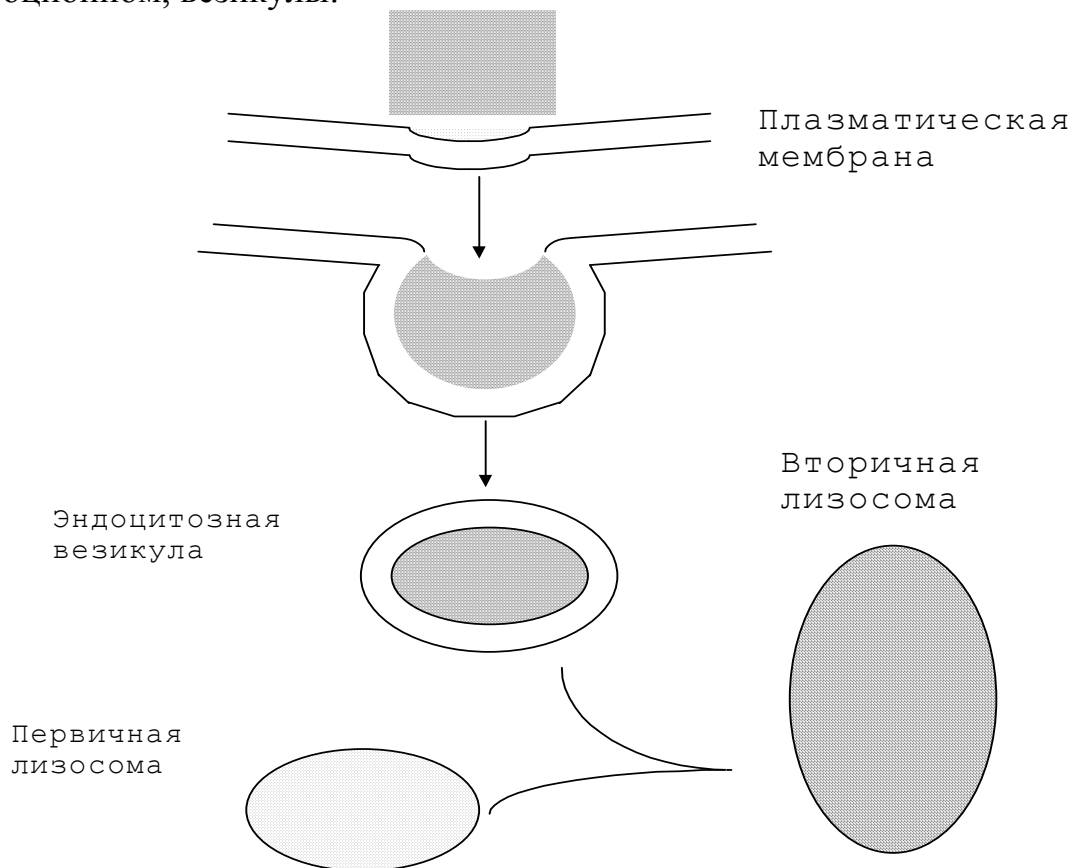
Различают два основных типа эндоцитоза: *фагоцитоз* (рис.6) – захват клеткой нерастворимых веществ и *пиноцитоз* – процесс, связанный с захватом растворимых веществ вместе с каплей растворителя

(внеклеточной жидкости). Первый процесс встречается только в специализированных фагоцитирующих клетках, таких как макрофаги и гранулоциты. Пиноцитоз характерен для всех клеток.

Имеются два типа пиноцитоза: адсорбционный и жидкофазовый.

Адсорбционный пиноцитоз является рецепторопосредованным селективным процессом усвоения макромолекул, для которых имеются белковые рецепторы – участки связывания на плазматической мембране. Эти рецепторы характеризуются высоким сродством к лигандам (веществам), что позволяет с помощью пиноцитоза извлекать эти вещества из внеклеточной среды. Примером адсорбционного пиноцитоза является захват клеткой молекул липопротеидов низкой плотности (ЛПНП), а также гормонов.

При жидкофазном пиноцитозе растворенные вещества захватываются пропорционально их концентрации во внеклеточной жидкости, при этом образуются меньшие по размерам, чем при адсорбционном, везикулы.



**Рис. 6. Схематическое изображение эндоцитоза.**

**Экзоцитоз** – процесс, противоположный эндоцитозу и предназначенный для экспорта синтезированных белков из клетки (например, гормона инсулина бета-клетками островков Лангерганса,



белков плазмы крови из гепатоцитов). При этом различные пузырьки (эндоплазматического ретикулума, аппарата Гольджи, эндоцитозные, лизосомы) сливаются с плазматической мембраной, освобождая свое содержимое наружу.

**Межклеточные контакты и коммуникации.** У клеток имеются специализированные области на мембранах для межклеточных контактов и коммуникаций при непосредственном соприкосновении. Образующийся зазор между клетками регулирует прохождение ионов и небольших молекул через узкую гидрофильную пору, соединяющую соседние клетки. Эти поры образуются из субъединиц, называемых коннексонами. Коннексоны состоят из 6 белковых субъединиц, которые пронизывают мембрану и контактируют с аналогичными структурами соседних клеток. Каждая субъединица имеет жесткую структуру, причем в ответ на специфический химический стимул субъединицы смещаются относительно друг друга, в результате чего формируется отверстие, через которое ионы и небольшие молекулы могут проходить из цитоплазмы одной клетки в цитоплазму другой.

Передача информации в клетку.

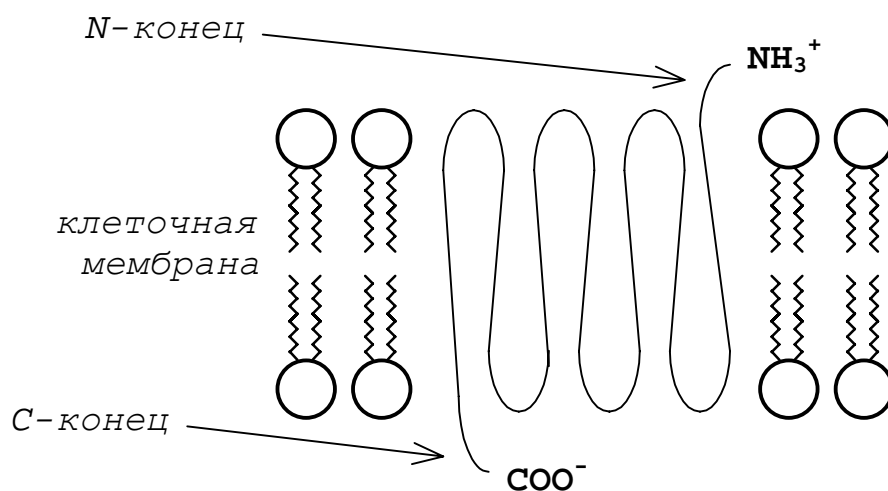
Передача информации в клетку осуществляется с помощью особых веществ, являющихся своеобразными сигнальными молекулами (гормоны, нейромедиаторы, иммуноглобулины и другие). Большинство из этих веществ не проходит через плазматическую мембрану, а оказывает свое влияние на внутриклеточные процессы посредством взаимодействия на мембране со специфическими интегральными белками – рецепторами. Рецепторы являются сложными белками гликопротеидами, содержащими углеводный компонент (моносахаридные остатки, сиаловую кислоту и др.)

По современным представлениям, проведение регуляторного сигнала с помощью рецепторов (трансдукция) состоит из нескольких стадий. Распознавание вещества рецептором является первой стадией этого процесса. Вторая стадия представляет собой сложный механизм трансмембранного переноса информации с внешней поверхности клетки на внутреннюю. Третье звено этого многоступенчатого каскада включает образование внутриклеточного эффектора (второго мессенджера или посредника) в ответ на поступившую извне информацию. Впервые второй посредник обнаружили в 1957. Сазерленд и его коллеги, выясняя механизм действия адреналина на метаболизм гликогена. Им оказался циклический аденозин-3,5 -монофосфат (цАМФ). Повышение уровня второго посредника внутри клетки включает четвертую стадию проведения внешнего сигнала – стадию функционирования клеточных ансамблей. В эти ансамбли входят ферменты, чья активность непосредственно контролируется внутриклеточным эффектором. Это, как правило, протеинкиназы, которые, в свою очередь, регулируют функции других

клеточных белков, включая ферменты. Таким образом, фермент регулятор (протеинкиназа), ферменты и белки клеточного метаболизма, находящиеся под его контролем, составляют единый ансамбль.

#### А. АДЕНИЛАТЦИКЛАЗНАЯ СИСТЕМА

Механизмы передачи информации в клетку могут быть рассмотрены на примере катехоламинов, которые связываются специфическими рецепторными белками, что активирует аденилатциклазную систему. Адренергические рецепторы расположены асимметрично на наружной стороне плазматической мембраны клеток - мишеней (рис.7).



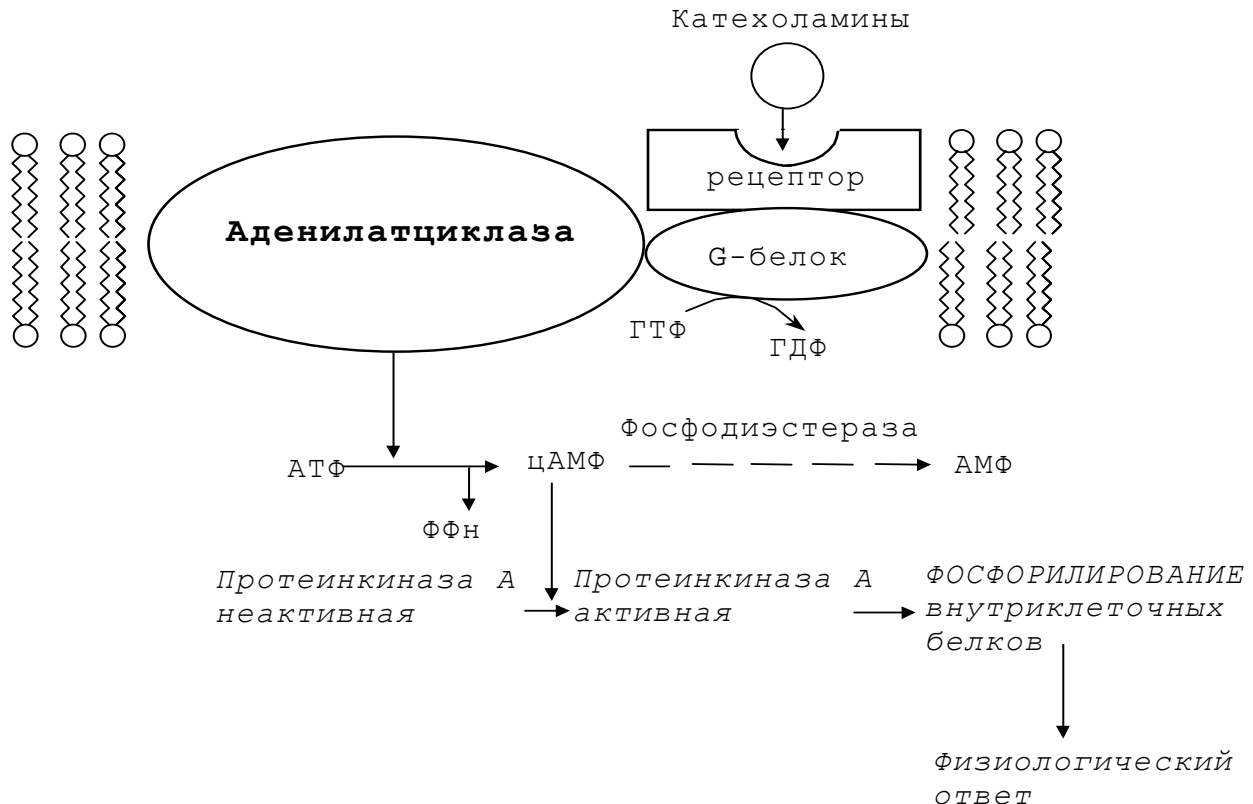
**Рис. 7. Схематическое изображение рецептора аденилатциклазной системы**

Рецепторы, регулирующие работу аденилатциклазной системы ( $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\alpha_1$ ,  $m_2$ ), имеют сходную структуру. Имеется 7 разграниченных областей, состоящих из 20-28 гидрофобных аминокислотных остатков, пронизывающих мембрану. На внешней стороне мембраны находится N-концевой участок и три петли, соединяющие гидрофобные участки. На внутренней стороне мембраны белок также образует три петли и заканчивается C-концевым участком полипептидной цепи.

На N-концевом участке имеются остатки, по которым идет N-гликозилирование молекул рецептора. На C-концевом аминокислотном участке имеется ряд остатков, по которым может происходить регулярное фосфорилирование рецептора.

Связывание катехоламинов на наружной поверхности мембраны приводит к изменению каталитической активности мембранного фермента – аденилатциклазы. В передаче сигнала принимает также участие G-белок – универсальное связующее звено между рецепторами и ферментами

мембран. Аденилатциклаза генерирует образование цАМФ из АТФ (рис.8). Таким образом, информация, которая доставляется специфическими химическими регуляторами – катехоламинами на наружную поверхность мембраны, передается внутрь клетки, где цАМФ,



второй посредник гормонального сигнала, выполняет роль следующего переносчика информации.

Действие цАМФ внутри клетки опосредовано системой цАМФ-зависимых протеинкиназ типа А. Эти ферменты активируются при взаимодействии с цАМФ и катализируют реакции фосфорилирования белков. В свою очередь это приводит к изменению их конформации и функциональной активности.

Фосфорилирование протеинкиназой А белков приводит или к активации ряда ферментов (например, киназы фосфорилазы, липазы, фруктозо-1,6-дифос-фатазы) или к их ингибированию (например, гликогенсинтазы, глицеролфосфатацилтрансферазы).

**Рис. 8. Аденилатциклазная регуляторная система.**

Прекращение передачи сигнала в аденилатциклазной системе. Активность аденилатциклазной системы регулируется как на рецепторном уровне, так и рядом внутриклеточных процессов, прекращающих работу этого молекулярного механизма.

Регуляция на рецепторном уровне осуществляется путем десенситизации – снижения чувствительности клеток-мишеней к сигналам. Механизм десенситизации связан с уменьшением числа рецепторов на поверхности клеток при длительном действии гормона, медиатора или другого агониста. Это имеет место при снижении чувствительности к инсулину при ожирении и может быть обусловлено интернализацией рецепторов, то есть перемещением их внутрь клетки или с их модификацией, например, фосфорилированием.

Среди внутриклеточных механизмов терминации сигнала выделяют, во-первых, совокупность цАМФ-специфических диэстераз и, во-вторых, систему протеинфосфатаз.

Ферменты фосфодиэстеразы снижают уровень внутриклеточного цАМФ путем его дециклизации с образованием АМФ (для цГМФ-образование ГМФ). Другим важным звеном, обеспечивающим регуляцию функциональной активности и прерывание передачи сигнала, являются реакции дефосфорилирования, катализируемые протеинфосфатазами. Этот процесс, обратный фосфорилированию белков протеинкиназами, обеспечивает функцию белков в режиме, адекватном поступающим в клетку сигналам.

Таким образом, в аденилатциклазной системе передачи внутриклеточной информации фосфодиэстераза и протеинфосфатаза в паре с аденилатциклазой и протеинкиназой А образуют два основных уровня регуляции как всего каскада, так и эффекторных белков. Содержание цАМФ в клетке определяется соотношением активности аденилатциклазы и фосфодиэстеразы (ферментов, генерирующих и гидролизующих цАМФ). Соотношение активности протеинкиназы А и протеинфосфатазы непосредственно регулирует уровень фосфорилирования эффекторных белков, которые обуславливают клеточный ответ на действие сигналов. Четкая согласованность процессов на этих двух уровнях регуляции клеточной активности определяет многие закономерности функционирования отдельных клеток и организма в целом, как в норме, так и в при различных патологических состояниях.

#### Б. ИНОЗИТОЛФОСФАТИДНАЯ СИСТЕМА

Эта система имеет большую степень сложности по сравнению с аденилатциклазной системой. Ко вторым посредникам ее относят катионы  $Ca^{2+}$ , *диацилглицерол (ДАГ)*, *1,4,5 -инозитолтрифосфат (ИФ<sub>3</sub>)*, а также *цГМФ*, который играет двойную роль – он участвует как в формировании ответа клетки, так и в образовании участка отрицательной обратной связи, тормозящей работу системы.

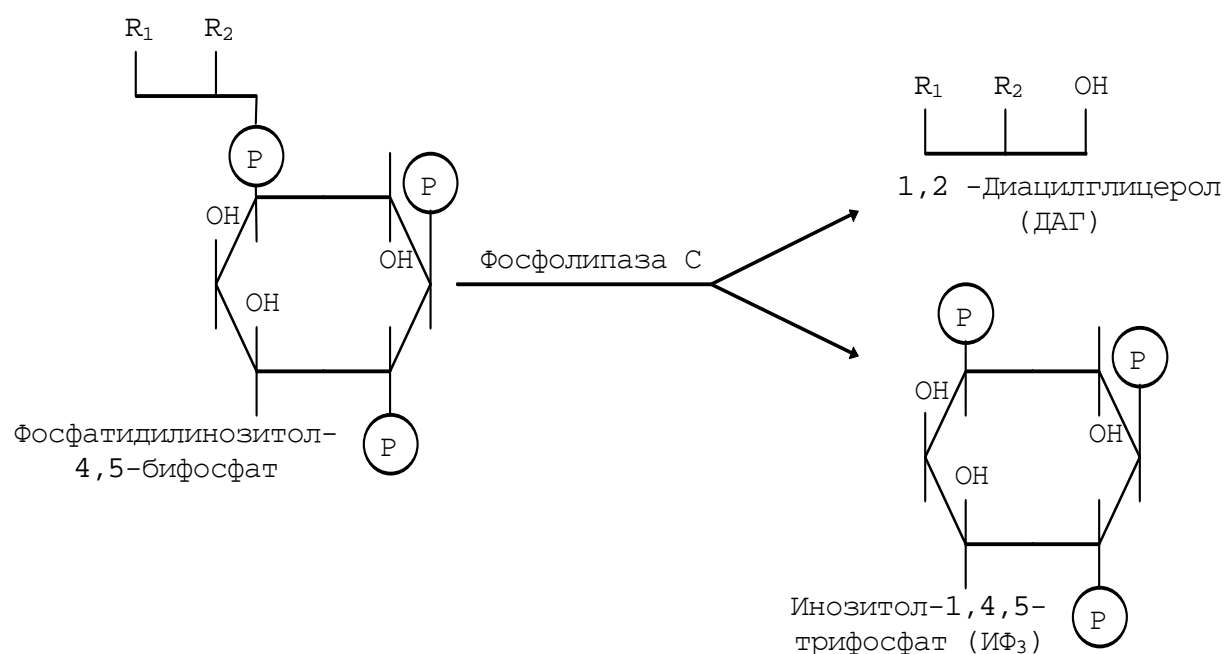
Начальный этап передачи сигнала внутрь клетки имеет сходство с таковым в аденилатциклазной системе. Активировать эту систему могут медиаторы и гормоны самых разных классов (биогенные амины,

адреналин, норадреналин, ацетилхолин, гистамин, серотонин, белково-пептидные гормоны).

Прием сигнала обеспечивает рецептор плазматической мембраны, который взаимодействует с G-белками мембран. Имеется значительное структурное и функциональное сходство между этими белками для инозитолфосфатидной и аденилатциклазной систем. Эти белки могут регулировать фосфоинозитолспецифичную фосфолипазу С.

*Фосфолипаза С* является ферментом, на уровне которого заканчивается трансмембранная передача сигнала с поверхности клетки и происходит образование вторых посредников. Субстратом этого фермента является фосфатидилинозитолдифосфат (ФИФ<sub>2</sub>), являющийся компонентом липидного бислоя мембраны, его количество не превышает 3-5% общего уровня мембранных фосфолипидов. ФИФ<sub>2</sub> образуется из фосфатидилинозитола, который представляет собой эфир глицерина, содержащий в первом положении обычно остаток стеариновой кислоты, во втором – арахидоновой, а в 3-м положении спирт инозит. Последний может иметь разное количество фосфорильных остатков.

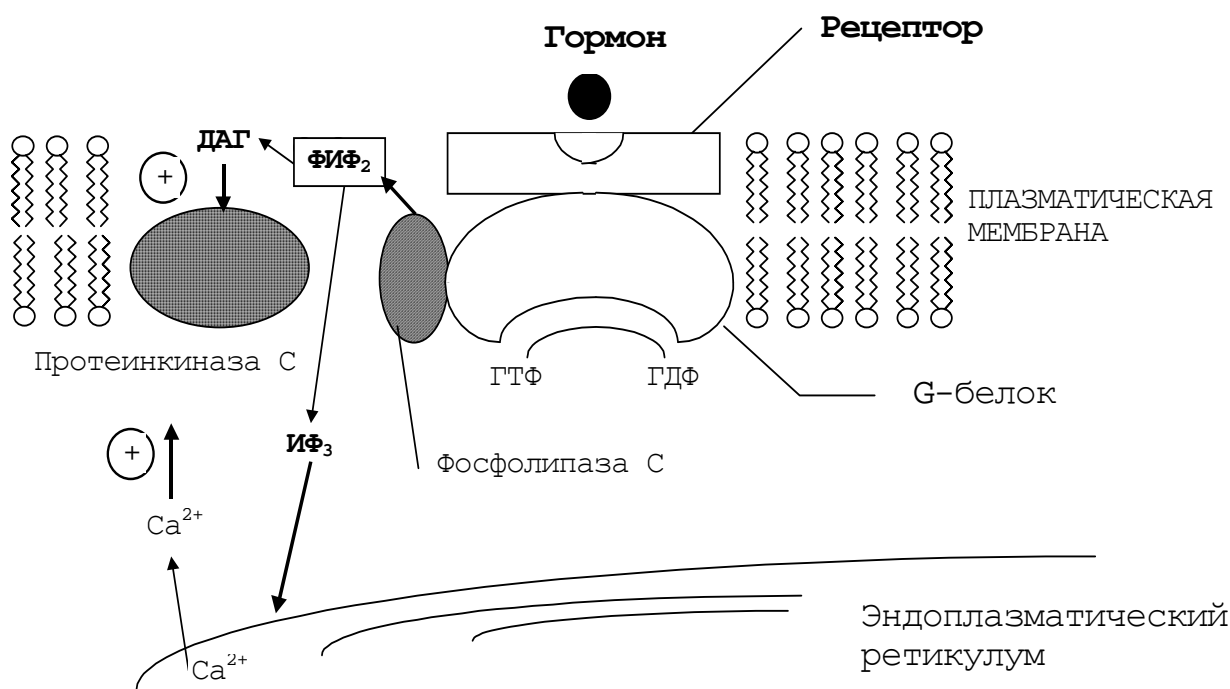
Реакция гидролиза фосфатидилинозитол-4,5-бифосфата (ФИФ<sub>2</sub>), катализируемая фосфолипазой С, идет по следующему уравнению:



**ИФ<sub>3</sub>** стимулирует освобождение **Ca<sup>2+</sup>** из эндоплазматического ретикулума (рис.9). В мембранах эндоплазматического ретикулума (саркоплазматический ретикулум в клетках мышечной ткани, кальцисомы в других тканях) депонировано от 25 до 90% имеющегося в клетке **Ca<sup>2+</sup>**. В принципе, **Ca<sup>2+</sup>** может вступать в ионные связи или образовывать комплексы с любыми структурами, имеющими отрицательно заряженные

группировки. Это сопровождается изменением активности молекул. Однако, наибольшее значение в реализации его свойств как посредника (мессенджера), имеет взаимодействие с белками, им специфически управляемыми. Такая реакция может быть прямой –  $\text{Ca}^{2+}$ , связываясь с белком, непосредственно изменяет его активность. Но часто эффект опосредован  $\text{Ca}^{2+}$ -связывающим белком, не имеющим собственной активности, но влияющим в комплексе с  $\text{Ca}^{2+}$  на работу ферментов.

К таким белкам относят кальмодулин, тропонин С, легкие цепи миозина и другие.



**Рис. 9. Инозитолфосфатидная система.**

Обозначения: ФИФ<sub>2</sub> – фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат;

ДАГ – 1,2-диацилглицерол; ИФ<sub>3</sub> – инозитол-1,4,5-трифосфат

*Кальмодулин* представляет собой основную мишень для действия внутриклеточного кальция. Его молекулярная масса 17000, содержит 150 аминокислот. Ионы кальция связываются с кальмодулином, и образующийся комплекс активирует ферменты киназы, которые фосфорилируют белки, что обеспечивает начало физиологического ответа.

*Кальмодулинзависимые протеинкиназы* – ферменты, посредством которых кальмодулин передает действие  $\text{Ca}^{2+}$  на значительное число эффекторных белков, изменяя их активность за счет фосфорилирования, усиливая таким образом  $\text{Ca}^{2+}$  - сигнал в клетке.

Одновременно с протеинкиназой комплекс  $\text{Ca}^{2+}$  с кальмодулином активирует соответствующие протеинфосфатазы. Таким образом,  $\text{Ca}^{2+}$  параллельно влияет как на процессы фосфорилирования, так и на дефосфорилирование, что контролирует скорость этих реакций.

В настоящее время выделено несколько видов кальмодулинзависимых протеинкиназ. Хорошо изученной является киназа фосфорилазы. Активность этого фермента регулируется наряду с этим механизмом и протеинкиназой А (аденилатциклазного механизма).

Образующийся при гидролизе  $\text{ФИФ}_2$  другой посредник – **ДАГ** в отличие от  $\text{ИФ}_3$  остается в пределах мембраны. Регуляция под влиянием **ДАГ** осуществляется через протеинкиназу С, которая обладает сравнительно низкой активностью пока находится в цитозоле. Повышение концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  приводит к транслокации фермента из цитоплазмы в плазматическую мембрану. Здесь она вступает в контакт с **ДАГ** и фосфатидилсерином, что вызывает значительное увеличение ее активности. Такая форма протеинкиназы С, активируемая  $\text{Ca}^{2+}$  и связанная с мембраной, и является передатчиком сигнала во время фазы длительной реакции.

Протеинкиназа С в клетке фосфорилирует большое число белковых субстратов. Ряд этих белков фосфорилируется также протеинкиназой А и кальмодулин-протеинкиназой (иногда фосфорилирование происходит в тех же участках). Но есть субстраты, фосфорилируемые только протеинкиназой С (например, специфический белок нервных окончаний).

Показан синергизм между  $\text{ИФ}_3$ - $\text{Ca}^{2+}$  и **ДАГ**-зависимыми участками системы в процессе клеточного ответа, их совместное действие приводит к одновременному фосфорилированию и последующей активации ряда белков.

Четвертый посредник этой системы – **цГМФ** образуется под действием гуанилатциклазы. Существует несколько форм этого фермента. Одни из них связаны с внешней мембраной. За счет этого возможна его активация не только продуктами метаболизма, но и непосредственным воздействием внешнего сигнала. Другие разновидности гуанилатциклазы находятся в цитоплазме в растворенном состоянии, некоторые являются гем-содержащими ферментами, в отдельные формы включены катионы  $\text{Ca}^{2+}$ . Обе формы фермента активируются арахидоновой кислотой и продуктами ее метаболизма. Так как при активации  $\text{Ca}^{2+}$ -инозитолфосфатидной системы идет интенсивное образование арахидоновой кислоты (при гидролизе **ДАГ**), то именно этот метаболит и является основным фактором сопряжения этой системы с активацией гуанилатциклазы и повышением уровня **цГМФ** в клетке.

Физиологические аспекты **цГМФ** связаны с активацией этим мессенджером протеинкиназы, которая фосфорилирует белки часто те же, что и протеинкиназа А.

Прекращение передачи сигнала и отрицательные обратные связи осуществляются двумя путями – инактивацией вторичных посредников и дефосфорилированием эффекторных белков.

Инактивация ИФ<sub>3</sub> происходит за счет отщепления фосфорильной группировки в пятом положении под действием фосфомоноэстеразы (ФМЭ). Активность ФМЭ возрастает при фосфорилировании ее протеинкиназой С. Таким образом, увеличение концентрации продуктов реакции приводит к увеличению скорости деградации одного из начальных передатчиков.

ДАГ может инактивироваться двумя путями:

1. путем фосфорилирования ДАГ-киназой с образованием фосфатидной кислоты (около 30%);
2. последовательным расщеплением до глицерина и жирных кислот под действием ДАГ-липазы (сначала в 1-ом положении отщепляется стеариновая кислота, затем во 2-ом положении отщепляется арахидоновая кислота).

Освобождающаяся арахидоновая кислота служит источником образования соответствующих гидропероксидов, а также используется для образования простагландинов и лейкотриенов.

**Обмен Са.** В цитоплазме находятся Са<sup>2+</sup>-связывающие белки. Они связывают свободный Са<sup>2+</sup> и создают определенную внутриклеточную Са<sup>2+</sup> буферную систему.

При концентрации ионов кальция 1.10<sup>-6</sup> моль/л выведение его из цитоплазмы осуществляется Са<sup>2+</sup>-АТФазами внешней плазматической мембраны. Однако этот механизм имеет значение в покое клетки.

При массивном поступлении Са<sup>2+</sup> в цитоплазму (10<sup>-5</sup> моль/л), что может происходить при различной патологии, активируется транспортная система митохондрий, которая обладает значительной емкостью и эффективностью.

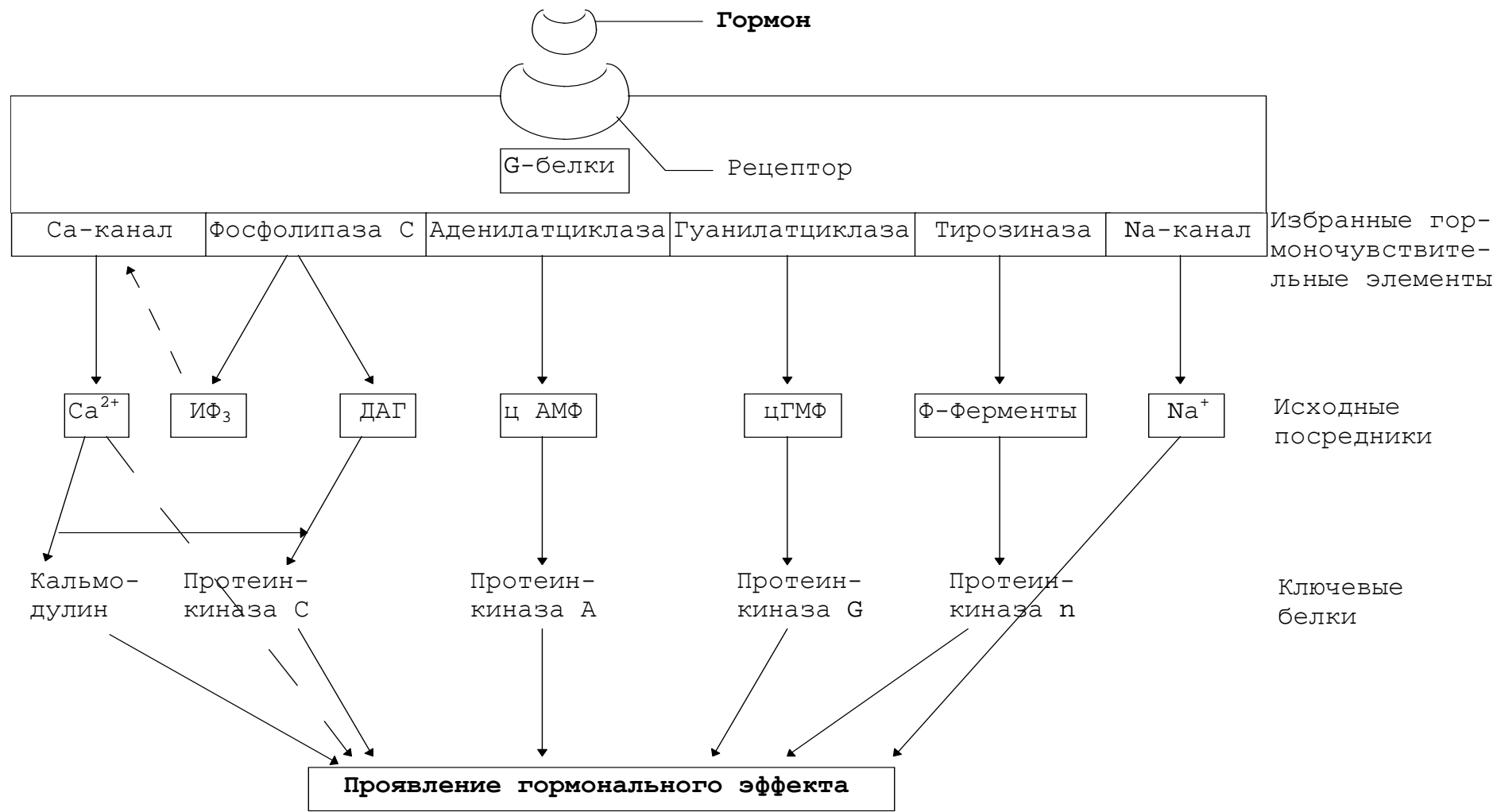
Таким образом, система инактивации Са<sup>2+</sup> сигнала имеет несколько уровней, она обеспечивает перемещение и изоляцию Са<sup>2+</sup> внутри клетки (митохондрии, эндоплазматический ретикулум, Са<sup>2+</sup>-связывающие белки), а также выброс Са<sup>2+</sup> во внеклеточную среду. Кроме того, имеются и отрицательный регулятор – цГМФ. Увеличение уровня цГМФ ведет к резкому торможению мобилизации Са<sup>2+</sup> из эндоплазматического ретикула. Поэтому гуанилатциклазный механизм рассматривают как компонент, снижающий активность инозитолфосфатидной системы.

Таким образом, инозитолфосфатидная система, наряду с аденилатциклазной, обеспечивает передачу внешнего сигнала на метаболизм в клетке. На рис.10 представлены различные пути и механизмы трансмембранного проведения сигнала.

Для регуляторных молекул, легко проходящих фосфолипидный бислой плазматической мембраны (например, стероидных гормонов)



существует другой механизм рецепции — с помощью внутриклеточных рецепторов.



**Рис.10 Пути и механизмы трансмембранного проведения гормональных сигналов (по В. Б. Розену, 1994).**

Сокращения: Ф – фосфорилированные ферменты; ИФ<sub>3</sub> – инозитолтрифосфат; ДАГ – диацилглицерол.

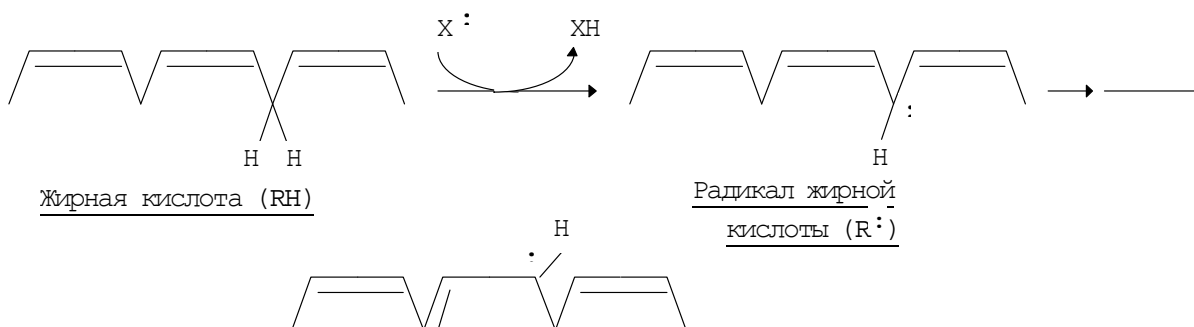
Примеры нарушения функций клеточных мембран

#### А. УСИЛЕНИЕ ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ МЕМБРАН

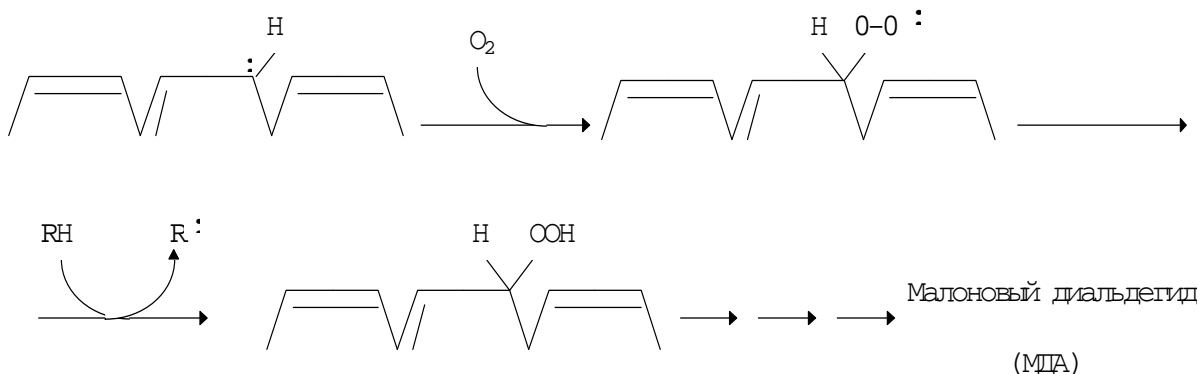
Полиненасыщенные жирные кислоты, входящие в состав фосфолипидов мембран могут окисляться с образованием перекисей или гидроперекисей (пероксидация или пероксидное окисление липидов – ПОЛ). Легче окисляется метиленовая группа, расположенная рядом с двойной связью. Поэтому, чем больше в жирной кислоте двойных связей, тем легче происходит пероксидация, что особенно характерно для арахидоновой кислоты ( $C_{20:4}$ ). Пероксидация – это процесс свободнорадикального окисления, который инициируется первичными кислородными радикалами –  $O_2^-$  (супероксид),  $HO_2^*$  гидропероксид,  $H_2O_2^*$  (гидроксильный радикал), а также другими первичными радикалами ( $x^*$ ), в том числе и радикалами жирных кислот ( $R^*$ ).

Различают 3 стадии пероксидации: *инициация, развитие цепных реакций и завершение пероксидации.*

**I стадия** – инициация: жирная кислота взаимодействует с первичным свободным радикалом. Образуется свободный радикал жирной кислоты, затем происходит перегруппировка двойных связей и образуются производные кислот – диены, триены.



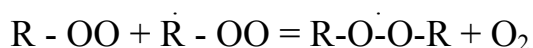
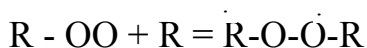
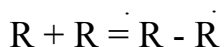
**II стадия** – развитие цепных реакций. Окисление свободного радикала жирной кислоты приводит к образованию пероксидного радикала ( $R-OO^*$ ), взаимодействие которого с новой жирной кислотой дает гидропероксид ( $ROOH$ ) и новый свободный радикал. Далее реакция носит цепной характер.



Появившийся радикал новой жирной кислоты может инициировать такую же последовательность реакций – идет разветвление цепи (цепная реакция).

Образовавшиеся гидроперекиси жирных кислот имеют нестабильную связь C–C, соседствующую с гидропероксидом. Эта связь разрывается с образованием альдегидов. Конечным продуктом этих превращений является малоновый диальдегид. Сами жирные кислоты при этом распадаются на фрагменты, что ведет к нарушению гидрофобных взаимодействий между белками и фосфолипидами, проникновению воды и кислорода в гидрофобный слой. Мембрана как бы «разрыхляется» и становится более доступной к воздействию фосфолипаз.

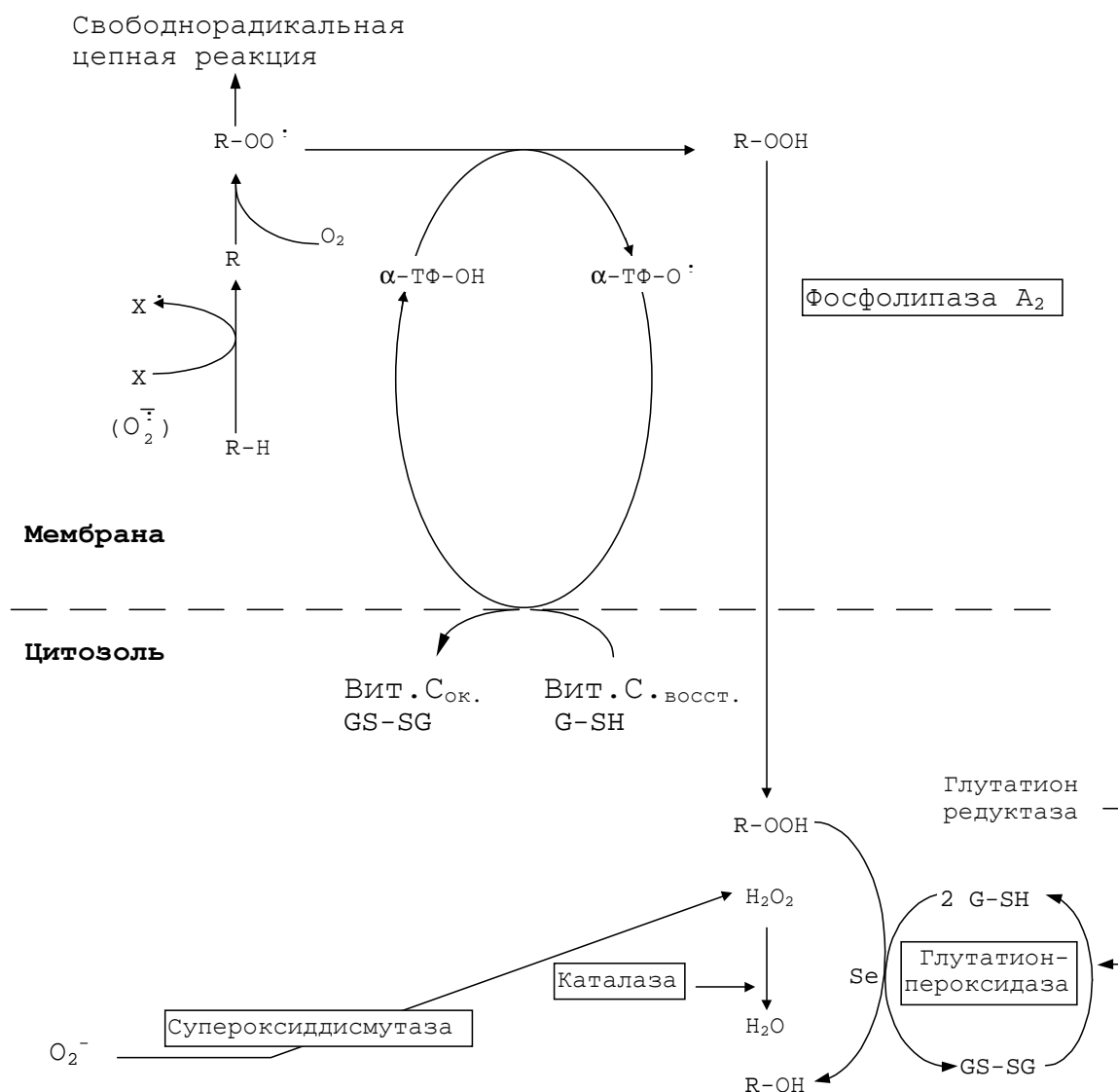
**III стадия** – завершение пероксидации с образованием неактивных продуктов:



### СИСТЕМА АНТИПЕРОКСИДНОЙ ЗАЩИТЫ МЕМБРАН

Система защиты тканей от свободных радикалов и агрессивных форм кислорода и его высокоактивных метаболитов сводится к нескольким механизмам (рис. 11).

1. Стабилизация структуры биологических мембран путем встраивания антиоксидантов в их липидную фазу, а за счет этого – защита от атаки молекулярного кислорода, пероксидного окисления и действия фосфолипаз.
2. Дисмутация супероксид-аниона ферментом супероксиддисмутазой с образованием пероксида водорода.
3. Обрыв цепи свободнорадикальных реакций.
4. Ферментативное восстановление пероксида водорода (каталаза) и гидроперекисей липидов (глутатионпероксидаза, каталаза).
5. Инактивация вторичных продуктов перекисного окисления липидов с помощью глутатионтрансферазы.



**Рис. 11. Взаимодействие антиоксидантных систем.**

Обозначения:  $R-H$  – полиненасыщенная жирная кислота фосфолипидов;  
 $\alpha$ -ТФ – альфа-токоферол;  
 $G-SH$  – глутатион восстановленный;  
 $GS-SG$  – глутатион окисленный;  
 $X^\cdot$  – свободный радикал;  
 $ROO^\cdot$  – пероксидный радикал;  
 $R-OOH$  – гидропероксид.

Для осуществления последних двух механизмов необходим восстановленный глутатион.

В тканях человека трипептид *глутатион* ( $\gamma$ -глу-цис-гли) присутствует в двух формах: в виде восстановленного глутатиона, имеющего свободную сульфгидрильную группу, и в виде глутатиона, образующегося в результате окисления тиоловых групп двух его молекул. Концентрация восстановленного глутатиона в клетках почти на два порядка выше концентрации глутатиондисульфида. Глутатион-дисульфидная система, являющаяся своеобразным окислительно-восстановительным буфером

клетки, обеспечивает переход дисульфидных производных различных белков в их тиоловые формы, инактивацию гидроперекисей липидов и пероксида водорода, а также восстановление дегидроаскорбиновой кислоты. Кроме того, в качестве субстрата глутатион участвует в механизме транспорта аминокислот через мембраны и в детоксикации большого числа ксенобиотиков, а в качестве кофермента – в реакциях, катализируемых глиоксилазой, малеилацетоацетатаизомеразой, формальдегиддегидрогеназой. Последняя реакция важна для поддержания нормальной функции хрусталика глаза.

Установлено, что скорость синтеза глутатиона в печени лимитируется аминокислотами-предшественниками (в первую очередь цистеином) и зависит от полноценности белкового рациона.

Участие глутатиона в антипероксидной защите клеток обеспечивают в основном два фермента: *глутатионпероксидаза* (ГПО) и *глутатионредуктаза* (ГР). Глутатионпероксидаза катализирует реакции восстановления пероксида водорода и гидроперекисей ненасыщенных жирных кислот с участием восстановленного глутатиона. Фермент, выделенный из эритроцитов человека, содержит селен и является тетрамером, состоящим из субъединиц молекулярной массой около 20 тыс. Глутатионредуктаза – единственный фермент, который способен поддерживать высокий пул восстановленного глутатиона. По химической природе глутатионредуктаза эритроцитов человека является флавопротеидом, сродство к НАДФ<sup>+</sup> которого выше, чем к НАД<sup>+</sup>. В связи с этим функция глутатионредуктазной системы сопряжена с действием глюкозо-6 фосфатдегидрогеназы - ключевого фермента пентозо-фосфатного пути обмена глюкозы, основного поставщика восстановленной формы НАДФ. Поскольку коферментом глутатионредуктазы является ФАД, синтез фермента зависит от количества рибофлавина в тканях.

Для осуществления всех указанных защитных механизмов необходим ряд витаминов, которые, однако могут инициировать и повреждающие эффекты.

Водорастворимый *витамин С*, окисляясь, отдает протоны, поэтому он обрывает цепь свободнорадикальных реакций, обеспечивает регенерацию *α-токоферола* из радикальной формы, участвует в восстановлении глутатиона и HS-групп белков. Жирорастворимый витамин Е (альфа-токоферол) взаимодействует со свободными пероксидными радикалами липидов, инактивируя их, встраивается в липидный бислой мембран и влияет на его физические характеристики. *Витамин А* является минорным компонентом биологических мембран, влияет на их микровязкость, регулирует активность фосфолипазы А<sub>2</sub>, изменяет фосфолипидный состав мембран, может взаимодействовать с синглетным кислородом, ингибирует по аллостерическому типу глутатионтрансферазу, облегчая использование восстановленного глутатиона в глутатионпероксидазной реакции. Каротиноиды (предшественники витамина А) за счет образования

резонансно-стабилизированных радикалов обладают антиоксидантными свойствами.

Усиление свободнорадикальных процессов в тканях вызывает защитное напряжение антипероксидных механизмов, однако при нарастании интенсивности или длительном воздействии неблагоприятного фактора может произойти срыв адаптивных систем. Иницирующими агентами при этом могут быть самые различные физические, химические, микробные, эмоциональные воздействия (таблица 2).

Таблица 2

## ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ

Активирование	Торможение
Гипероксигенация	<p>Ферменты антиоксидантной системы</p> <p>Алиментраные факторы:  достаточное поступление в организм селена, серосодержащих аминокислот и соединений с тиогруппами, витаминов антиоксидантов (токоферола, аскорбиновой кислоты, рутина, провитамина каротина и др.)</p>
Ионизирующие излучения	
Нарушение структуры мембран клетки	
Активация фагоцитоза	
Стрессовые состояния	
Гиперлипидемия	
Избыточное потребление углеводов	
Возрастное снижение активности ферментов тканей	

### **Фармакологические препараты, влияющие на процессы перекисдного окисления липидов**

Витаминные препараты (токоферол, аскорбиновая кислота) широко используются для патогенетической терапии различных заболеваний, связанных с усилением процессов перекисдного окисления. Действие каротина обусловлено его антиоксидантной активностью. На основе  $\beta$ -каротина разработан препарат *веторон*. Растительные витаминные препараты (масло шиповника, облепиховое) содержат каротиноиды, токоферолы, насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты.

Группа препаратов витамина Р (*рутин, кверцетин*) также обладает антиоксидантными свойствами, в частности, предохраняет от окисления аскорбиновую кислоту и адреналин.

Имеется ряд комплексных антиоксидантных препаратов, включающих витамины и микроэлементы, в частности, *триовит*, содержащий аскорбиновую кислоту, токоферол,  $\beta$ -каротин и селен.

Препараты *легалон*, *силибор*, *катерген* содержат флавоноидные соединения, обладающие гепатотропным действием, которое объясняют их антиоксидантной активностью (торможение перекисного окисления липидов, связывание токсичных свободных радикалов, стабилизация клеточных мембран и лизосом).

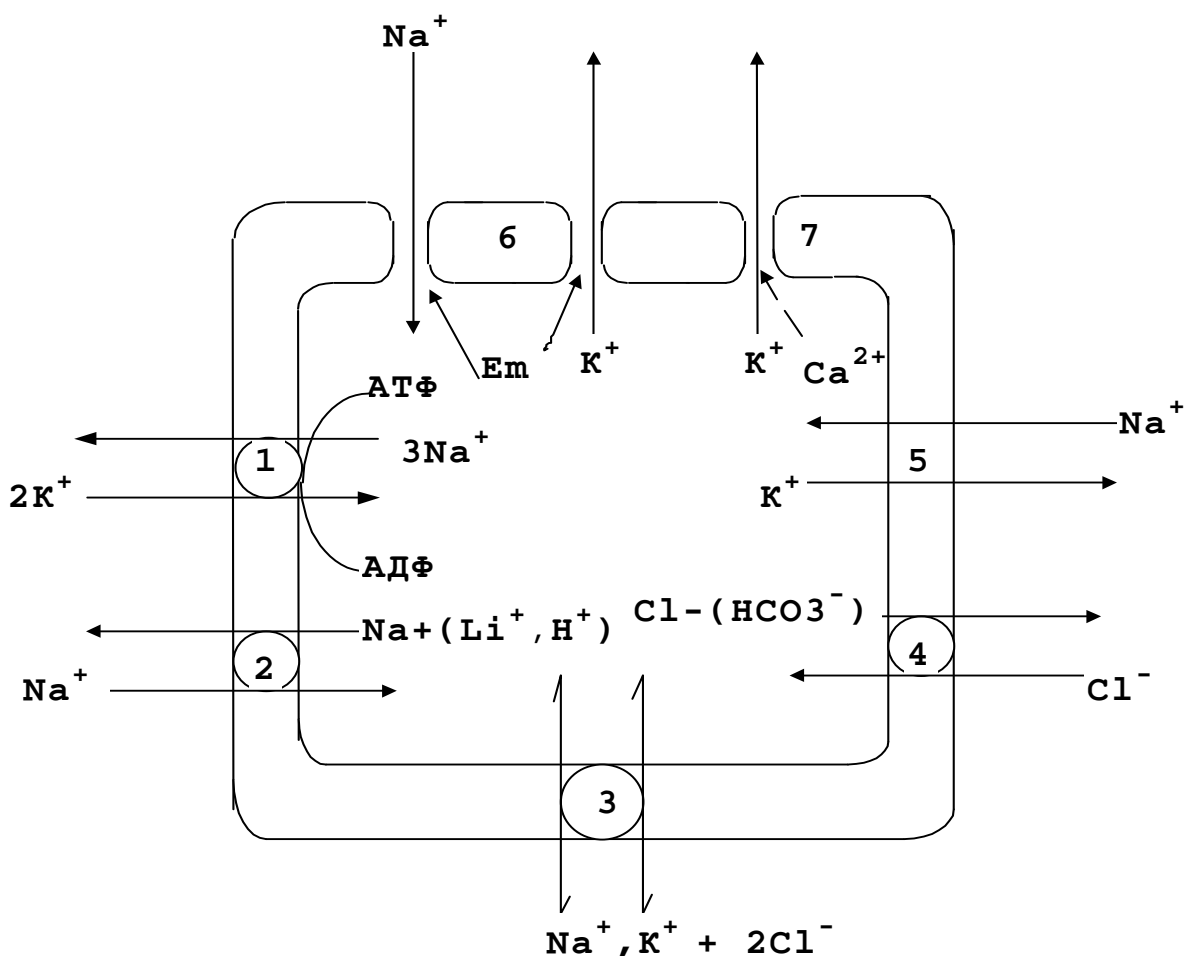
Используются также синтетические антиоксидантные препараты. Один из основных препаратов этой группы *дibuнол* обладает выраженной антирадикальной активностью, выпускают его в виде линимента для наружного применения. *Эмоксипин* – антиоксидантный препарат, обладающий антигипоксической, ангиопротекторной и антиагрегационной способностью. Применяется при инфаркте миокарда, нарушении мозгового кровообращения, кожных заболеваниях, глаукоме и других. *Мексидол*, подобно эмоксипину, является ингибитором свободнорадикальных процессов, но обладает более выраженным антигипоксическим действием, повышает устойчивость организма к недостатку кислорода, используется при лечении острого нарушения мозгового кровообращения и других состояний, сопровождающихся гипоксией тканей. *Убинол* (убихинон) используется в качестве антиоксиданта, способного угнетать процессы перекисного окисления липидов и оказывать антигипоксическое действие. Применяется в комплексной терапии ишемической болезни сердца, используется спортсменами для восстановления работоспособности.

## Б. НАРУШЕНИЕ МЕМБРАННОГО ТРАНСПОРТА

**Первичная гипертензия.** Примером патологии, в механизме которой важная роль отводится нарушению структуры и транспортной функции клеточных мембран, может служить эссенциальная или первичная гипертензия (гипертоническая болезнь). Одним из главных патогенетических механизмов этой патологии является увеличение сопротивления периферических кровеносных сосудов, которое может быть вызвано повышением тонуса гладких мышц их стенок. Развитие гипертензии обусловлено двумя важными механизмами. Первый из них связан с нарушением функционирования ионных переносчиков и повышением пассивной проницаемости мембраны для одновалентных катионов – ионов натрия, что приводит к уменьшению ее электрического потенциала. Вторым механизмом обусловлен развитием недостаточности мембранной регуляции внутриклеточного распределения ионов кальция, что ведет к повышению его уровня в цитоплазме и, как следствие этого, активированию сократительного аппарата гладких мышц сосудов и кардиомиоцитов. Необходимо отметить, что при первичной гипертензии дефект функций плазматических мембран, выражающийся в нарушении транспорта ионов натрия и кальция, представлен не только в сокращающихся клетках сердечно-сосудистой системы, но и в других – эритроцитах, тромбоцитах, клетках жировой ткани и нервных окончаниях.



Нарушение транспорта ионов натрия. Транспорт ионов натрия через плазматическую мембрану осуществляется различными механизмами (рис. 12).

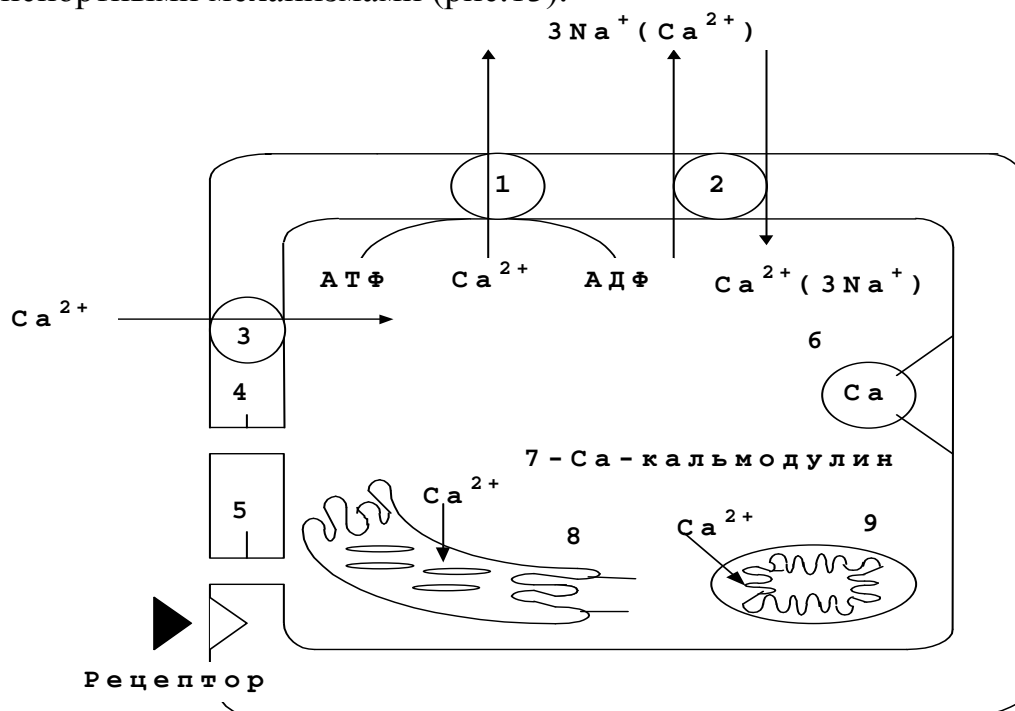


**Рис. 12. Основные пути переноса одновалентных ионов через плазматическую мембрану.**

Обозначения: 1 – активный транспорт (Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-АТФ-аза);  
 2-4 – облегченная диффузия: 2 – Na<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> противотранспорт;  
 3 – Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> котранспорт, 4 – анионный переносчик;  
 5 – пассивная диффузия, 6 – потенциалзависимые каналы;  
 7 – Ca<sup>2+</sup>-зависимые каналы.

Один из первых факторов нарушения ионного состава клеток при гипертонической болезни – это увеличение содержания ионов натрия в клетках различных типов. Было установлено, что это связано не с нарушением активности Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> - АТФазы, а обусловлено увеличением в 1,5-2 раза пассивной проницаемости мембраны для ионов натрия. В этих условиях увеличивается количество белковых переносчиков (облегченная диффузия), обеспечивающих Na<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup>-противотранспорт и Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-котранспорт, а также возрастает скорость диффузии ионов натрия по ионоселективным каналам. Изменение транспорта ионов натрия вызывает уменьшение электрического потенциала мембраны и, как следствие этого – нарушение механизма синаптической передачи и активирование периферического отдела нервной системы, что приводит к повышению тонуса сосудов.

Нарушение транспорта ионов кальция. Ключевым фактором, регулирующим сократимость гладкомышечных клеток, является концентрация ионов кальция в их цитоплазме, поддерживаемая различными транспортными механизмами (рис.13).



**Рис. 13. Системы, принимающие участие в регуляции концентрации свободного кальция в цитоплазме**

Обозначения: 1 –  $\text{Ca}^{2+}$ -насос; 2 –  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменник; 3 – вход  $\text{Ca}^{2+}$ , опосредованный через специфический переносчик; 4 – потенциалзависимые  $\text{Ca}^{2+}$ -каналы; 5 – рецепторзависимые  $\text{Ca}^{2+}$ -каналы; 6 – связывание  $\text{Ca}^{2+}$  с плазматической мембраной; 7 – связывание  $\text{Ca}^{2+}$  с кальмодулином и другими белками; 8 – связывание  $\text{Ca}^{2+}$  с эндоплазматическим ретикулумом; 9 – связывание  $\text{Ca}^{2+}$  с митохондриями.

Повышение концентрации ионов кальция в цитоплазме, отмечаемое при гипертонической болезни не только в гладкомышечных клетках сосудов, но и в других типах клеток, определяется взаимодействием нескольких процессов и систем транспорта ионов. Во-первых, уменьшается скорость выведения ионов кальция из цитоплазмы кальциевыми насосами плазматической мембраны и эндоплазматического ретикулума и, во-вторых, повышается активность систем, обеспечивающих поступление ионов кальция в цитоплазму клетки. Таковыми системами для гладкомышечных клеток является потенциал- и рецепторуправляемые кальциевые каналы саркоплазматического ретикулума.

Контроль за сосудистым тонусом осуществляется симпатической нервной системой с помощью катехоламинов и серотонина, секретируемых симпатическими окончаниями. Конечный ответ миоцитов на эти воздействия

зависит от многих факторов: от соотношения  $\alpha$ - и  $\beta$  -рецепторов в плазматической мембране, активности полифосфоинозитидной системы и наличия в мембране рецепторзависимых  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов. Через эти каналы оказывают свое влияние на сосудистый тонус некоторые пептидные гормоны – ангиотензин II и антидиуретический гормон. Действие этих регуляторных факторов сопровождается также активацией фосфолипазы C и распадом инозитолполифосфатидов до вторичных мессенджеров – ДАГ и ИФ<sub>3</sub> (рис. 9). Конечный эффект ДАГ, а также циклических нуклеотидов на тонус клеток гладкой мускулатуры сосудов опосредуется через фосфорилирование ряда белков, в том числе белков актомиозинового комплекса, субъединиц потенциалзависимых и рецепторзависимых  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов и ионтранспортирующих АТФаз. Как уже отмечалось, ИФ<sub>3</sub> способен вызывать высвобождение ионов кальция из сети эндоплазматического ретикулума клеток гладкой мускулатуры. Высокий уровень ионов кальция в цитоплазме (более  $10^{-6}$  моль/л) приводит к увеличению тонуса гладких мышц стенок сосудов и повышению артериального давления. В некоторых случаях причиной гипертензии может быть повышенная чувствительность гладкомышечных клеток к веществам-регуляторам, например, гормонам, вызывающим подъем содержания ионов кальция в цитоплазме.

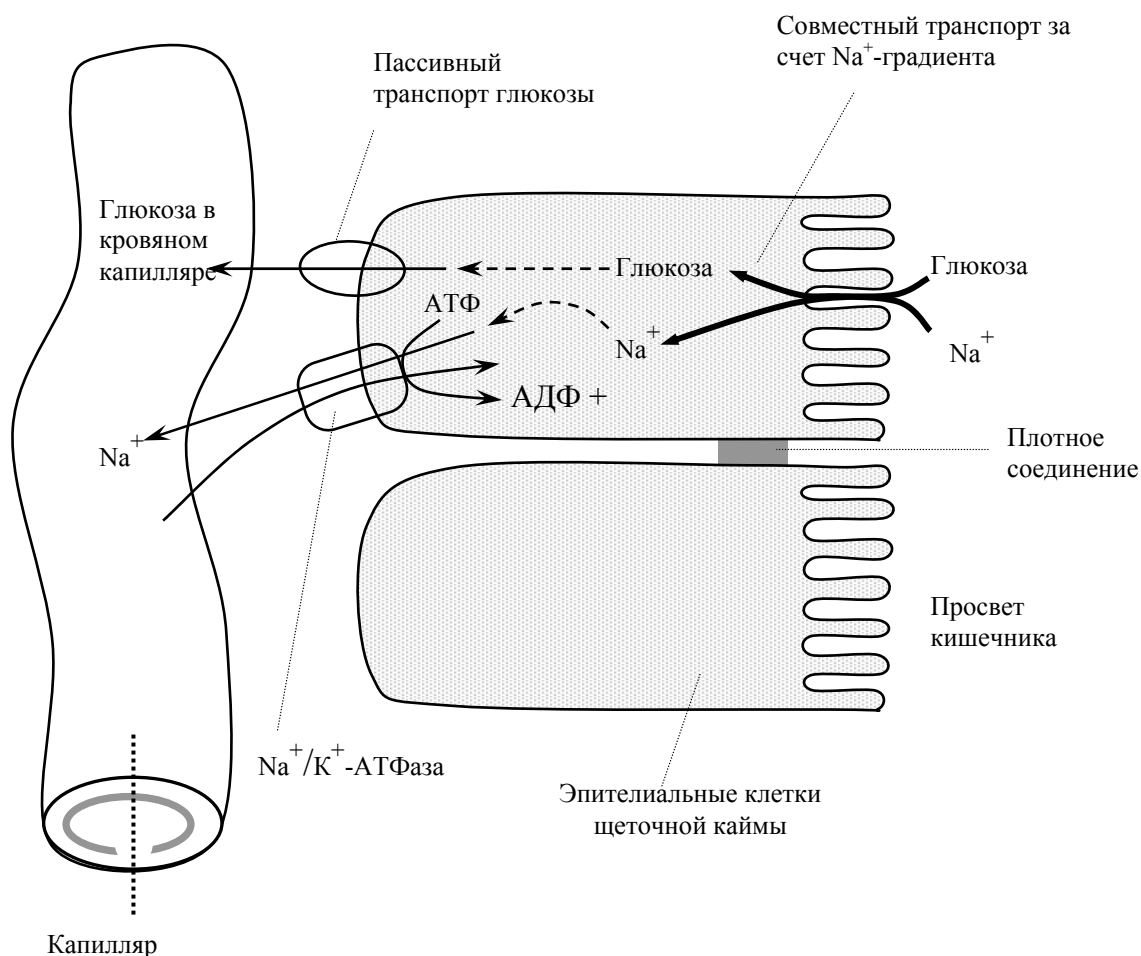
Данные о нарушениях мембранного контроля над распределением кальция в клетке послужили основой для применения в терапии гипертонической болезни антагонистов кальция, действие которых основано на снижении скорости поступления кальция в клетку, например, за счет блокирования рецепторзависимого механизма транспорта этих ионов.

Первыми веществами, способными тормозить прохождение ионов кальция через кальциевые каналы, были производные фенилалкиламина – *прениламин* и *верапамил*, предложенные первоначально в качестве сосудорасширяющих средств. В настоящее время известен ряд соединений, оказывающих подобное действие. Их объединяют под названием «**антагонисты ионов кальция**». Основными представителями этой группы являются *верапамил*, *нифедипин*, *дилтиазем*.

При патологических состояниях (ишемия, гипоксия и др.) ионы кальция, особенно при повышенной их концентрации, могут чрезмерно усиливать процессы клеточного метаболизма, повышать потребность тканей в кислороде и вызывать различные деструктивные процессы. В этих условиях антагонисты ионов кальция могут оказывать патогенетический фармакотерапевтический эффект.

**Непереносимость углеводов.** Одной из форм этого синдрома является нарушение всасывания глюкозы и галактозы в тонком кишечнике при нормальной активности пищеварительных ферментов. Эти моносахариды являются продуктами переваривания молочного сахара (лактозы) и других сложных углеводов. Глюкоза и галактоза всасываются из просвета кишечника в кровь в основном путем активного транспорта с помощью

транспортных белков при участии ионов натрия (рис. 14). В то же время транспорт моносахарида фруктозы происходит за счет диффузии.



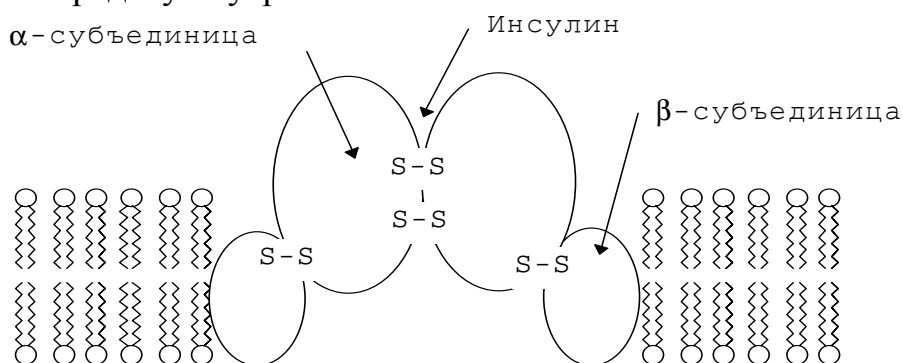
**Рис. 14. Активный транспорт глюкозы и ионов натрия при всасывании глюкозы из просвета тонкого кишечника**

Генетически обусловленное нарушение транспорта глюкозы и галактозы проявляется рано, иногда после первого кормления новорожденного. Симптомами этой патологии являются боль в животе, метеоризм, диарея, рвота, гипотрофия. Эти проявления связаны со сбраживанием не всосавшихся глюкозы и галактозы ферментами микроорганизмов кишечника. Образующиеся при этом органические кислоты подкисляют содержимое кишечного сока и приводят к перемещению воды в просвет кишечника. Все это усиливает перистальтику кишечника и вызывает диарею. Выявляют нарушение транспорта в кишечнике глюкозы и галактозы путем проведения «сахарной нагрузки» одним из этих моносахаридов (2 г/кг массы тела). В случае патологии нет типичного подъема сахарной кривой через 30-60 минут после приема углеводов. Исключение из пищи лактозы, состоящей из глюкозы и галактозы, и замена этих углеводов на фруктозу оказывает благоприятный эффект.

## В. НАРУШЕНИЕ РЕЦЕПЦИИ

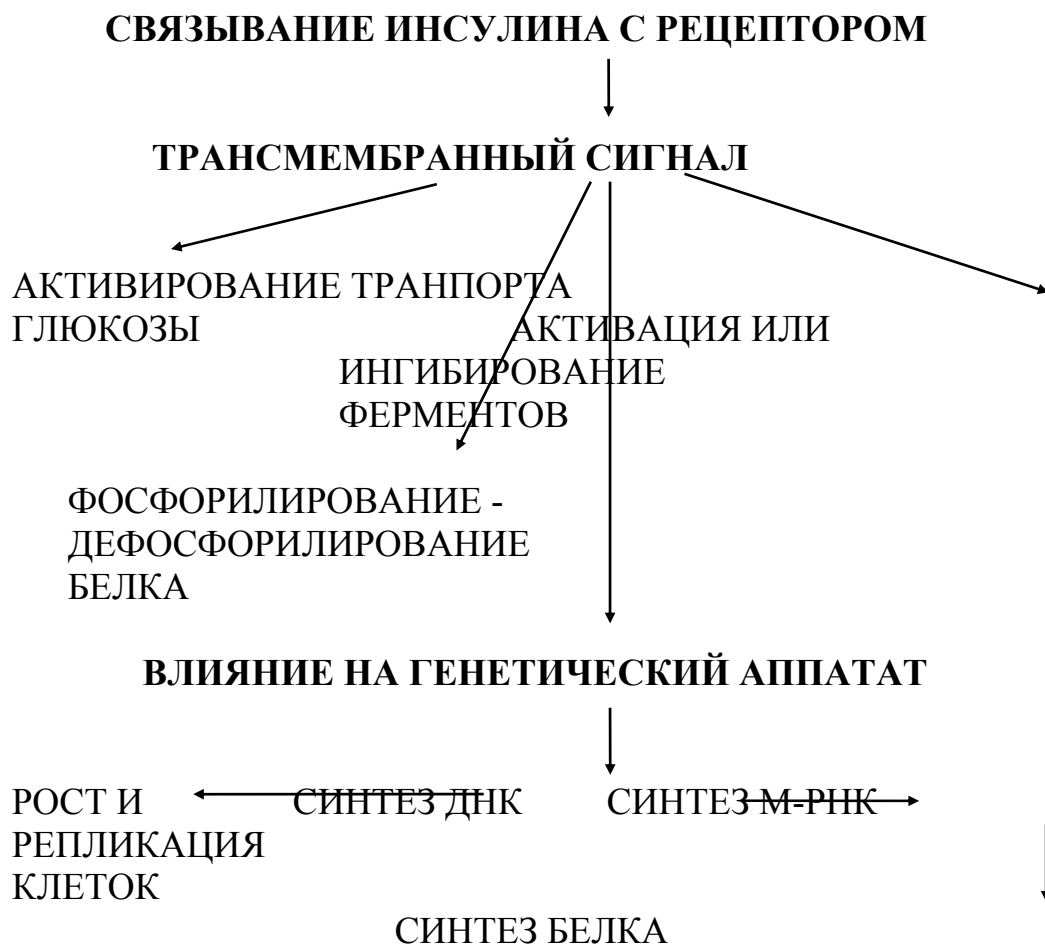
Роль дефицита рецепторов в развитии патологии рассмотрим на двух примерах – развитии сахарного диабета II типа и семейной гиперхолестеринемии.

**Сахарный диабет II типа.** Инсулиновые рецепторы, были открыты в 1971 году, когда было установлено, что именно с взаимодействия инсулина с рецепторами начинается влияние этого гормона на внутриклеточные процессы. Рецептор инсулина является тетрамером и состоит из двух одинаковых димеров (рис.15), содержащих по две  $\alpha$ - и две  $\beta$ -субъединицы, которые связаны между собой дисульфидными связями (-S-S-). Рецептор инсулина вмонтирован в плазматическую мембрану всех клеток (до 20000 рецепторов на клетку). Обе  $\alpha$ -субъединицы выступают снаружи и отвечают за связывание молекулы инсулина, причем участок связывания гормона богат цистеином. Меньшие по размерам  $\beta$ -субъединицы (их молекулярная масса составляет 95000, тогда как  $\alpha$ -субъединицы 135000) пронизывают липидный бислой мембраны и отвечают за формирование трансмембранного сигнала и его передачу внутрь клетки.



**Рис. 15. Схематическое изображение рецептора инсулина**

Связывание инсулина с рецепторами зависит от липидного состава плазматической мембраны и возрастает при увеличении содержания в липидном бислое полиненасыщенных жирных кислот (арахидоновой, линолевой, линоленовой), что обусловлено повышением текучести плазматической мембраны. Взаимодействие инсулина с рецептором вызывает изменение конформации рецепторных белков, что приводит к формированию трансмембранного сигнала. Причем передача регулирующих метаболитических сигналов от комплекса инсулин-рецептор осуществляется в результате аутофосфорилирования  $\beta$ -субъединицы, которая обладает протеинкиназной активностью, то есть способностью фосфорилировать различные белки и ферменты. Уже через несколько секунд после взаимодействия инсулина с рецептором активируется транспорт глюкозы, аминокислот и ионов в клетку, изменяется активность ферментов, синтез м-РНК, фосфорилируются (или дефосфорилируются) различные белки. Значительно позже – через несколько часов – увеличивается синтез ДНК, белков и клеточное деление (рис.16).



**Рис. 16. Связь между взаимодействием инсулина с рецептором и эффектами этого гормона.**

Количество инсулиновых рецепторов на плазматической мембране регулируется двумя процессами: интенсивностью их внутриклеточного синтеза и перемещением рецепторов внутрь клетки путем их эндоцитоза (интернализации). Интернализация происходит после соединения гормона с рецептором, затем комплекс инсулин-рецептор диссоциирует, и инсулиновый рецептор возвращается в плазматическую мембрану.

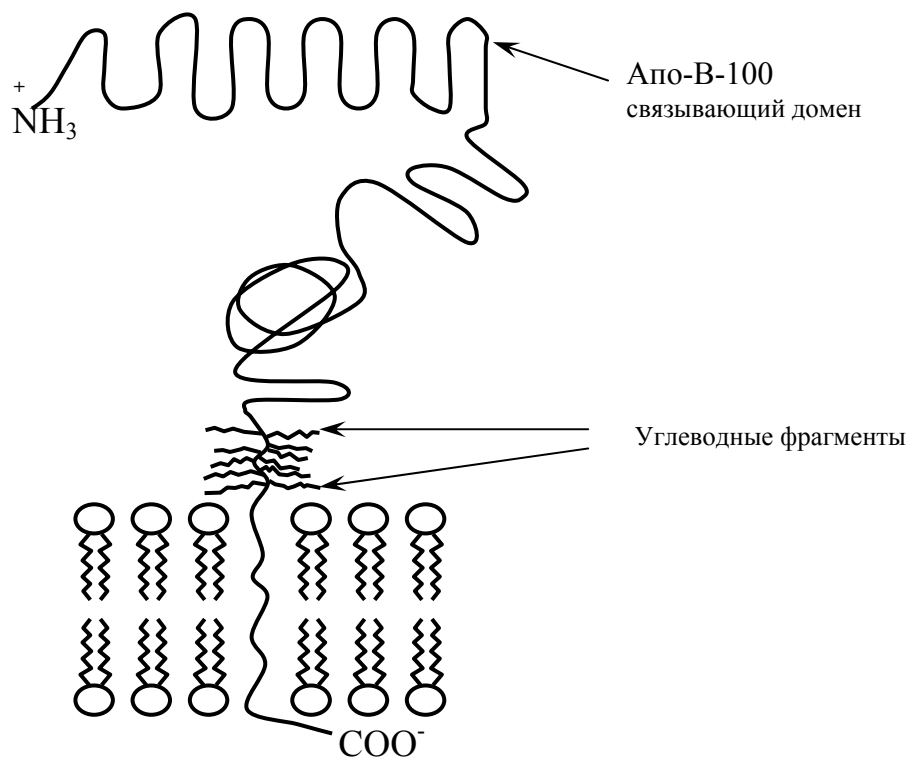
Способность рецепторов связывать инсулин изменяется при различных физиологических и патологических состояниях. Чаще всего это обусловлено уменьшением количества рецепторов, реже – нарушением сродства рецептора к молекуле гормона.

Так, при возрастании уровня инсулина в крови количество инсулиновых рецепторов на поверхности клеток снижается вследствие интернализации комплекса инсулин-рецептор (понижающая регуляция). Таким типом регуляции объясняют инсулинорезистентность при ожирении и одной из форм инсулиннезависимого сахарного диабета (II типа). При уменьшении содержания инсулина в крови число рецепторов к нему, наоборот, возрастает. При аутоиммунных заболеваниях, характеризующихся выработкой антител к инсулиновому рецептору, у больных развивается

инсулинорезистентность вследствие связывания рецептора в неактивный комплекс антитело-рецептор.

**Семейная гиперхолестеринемия** обусловлена дефицитом рецепторов к холестерину.

Липопротеиды низкой плотности (ЛПНП) являются формой транспорта холестерина от места его синтеза в печени до клеток периферических тканей. В составе ЛПНП имеется интегральный белок апо-В-100, с помощью которого этот липопротеид взаимодействует с рецепторами плазматической мембраны клеток паренхиматозных и соединительно-тканых типов. Число рецепторов к апо-В-100 в мембране клеток достигает нескольких десятков тысяч. Транспорт холестерина в клетку происходит путем рецептор-опосредованного эндоцитоза, который был расшифрован работами М. Брауна и Дж. Голстейна в 1973-77 годах. Этапы эндоцитоза рассматривались выше (рис. 6). ЛПНП-рецептор по своей химической природе является сложным белком гликопротеидом, причем наружный фрагмент рецептора богат цистеином, а также аминокислотами, имеющими отрицательно заряженные группировки (аспартат, глутамат). Последнее обстоятельство объясняет возможность связывания этими рецепторами молекулы ЛПНП, имеющего на поверхности белка апо-В-100 положительный заряд. Фрагмент рецептора, выступающий над поверхностью мембраны, содержит углеводные фрагменты сиаловой кислоты и галактозы (рис. 17).



### Рис. 17. Модель ЛПНП-рецептора в липидном бислое

Захваченный клеткой путем эндоцитоза комплекс ЛПНП+рецептор (процесс интернализации) подвергается затем действию лизосомальных ферментов, которые гидролизуют входящие в состав этого липопротеида молекулы, не затрагивая рецептор. Последний возвращается в плазматическую мембрану и вновь встраивается в нее. Доставленный в клетку холестерин регулирует синтез собственного холестерина в этой клетке и используется для построения липидного бислоя мембран. В клетке половых желез и надпочечников из холестерина образуются стероидные гормоны, в коже – холекальциферол (витамин Д<sub>3</sub>).

Если в клетку поступает избыток холестерина, он подвергается этерификации жирными кислотами с образованием эфирсвязанного холестерина (ЭСХ), который удаляется с плазматической мембраны с помощью липопротеидов высокой плотности (ЛПВП). В составе ЛПВП ЭСХ транспортируется в печень, где большая часть молекул холестерина окисляется с образованием желчных кислот и выводится в кишечник с желчью.

Рецептор-опосредованный захват ЛПНП обеспечивает поддержание в плазме нормального уровня холестерина (3,9-5,2 ммоль/л), что препятствует развитию атеросклероза. Нарушение синтеза ЛПНП-рецептора вследствие генных мутаций проявляется формированием тяжелой наследственной патологии – семейной гиперхолестеринемии (гиперлипотеидемии II а типа). Дефицит рецепторов приводит к нарушению катаболизма ЛПНП, поскольку захват последних происходит с помощью других рецепторов – «мусорщиков» (скэвенджер-рецепторов). Это приводит к накоплению холестерина в клетках, преимущественно макрофагах, что превращает их в пенистые клетки с последующим распадом. При этой патологии резко увеличивается уровень ЛПНП и холестерина в крови, особенно у гомозигот. При этом заболевании атеросклероз развивается в молодом возрасте, что клинически проявляется развитием ишемической болезни сердца или инфаркта миокарда. Частота дефицита ЛПНП-рецепторов в популяции составляет 1:1000000 у гомозигот и 1:500 у гетерозигот. В последние годы проводятся экспериментальные и клинические исследования метода генетической коррекции семейной гиперхолестеринемии – введение гена апо-В-100-рецептора.



Образцы тестовых заданий:

1. Липидный бислой мембран образован преимущественно:

- |                       |                        |
|-----------------------|------------------------|
| 1) триацилглицеринами | 4) глицерином          |
| 2) холестерином       | 5) эфирами холестерина |
| 3) Фосфолипидами      |                        |

2. Белки мембран представлены двумя типами – интегральными и .....

3. Ненасыщенными являются следующие три жирные кислоты:

- 1) олеиновая, пальмитиновая, арахидоновая
- 2) линолевая, линоленовая, стеариновая
- 3) пальмитиновая, стеариновая, арахидоновая
- 4) линолевая, линоленовая, арахидоновая
- 5) арахидоновая, линоленовая, лигноцериновая

4. Ферменты дыхательной цепи (переноса протонов и электронов) локализованы в мембране

- |                            |                     |
|----------------------------|---------------------|
| 1) плазматической          | 4) митохондрий      |
| 2) лизосом                 | 5) аппарата Гольджи |
| 3) эндоплазматической сети |                     |

5. Интегральным белком мембран митохондрий является:

- |                          |                |
|--------------------------|----------------|
| 1) сукцинатдегидрогеназа | 4) гликофорин  |
| 2) лактатдегидрогеназа   | 5) миоальбумин |
| 3) кислая фосфатаза      |                |

6. Вторым посредником в передаче сигнала в аденилатциклазной системе является:

- |                    |                       |
|--------------------|-----------------------|
| 1) аденилатциклаза | 4) цАМФ               |
| 2) цГМФ            | 5) киназа фосфорилазы |
| 3) протеинкиназа А |                       |

6. Вторыми посредниками передачи сигнала в инозитолфосфатидной системе являются:
- 1) гуанилатциклаза, аденилатциклаза, цАМФ
  - 2) фосфолипаза С, киназа фосфорилазы, цГМФ
  - 3)  $\text{Ca}^{2+}$ , диацилглицерол, инозитолтрифосфат, цГМФ
  - 4) ионы кальция, протеинкиназа С
  - 5) кальмодулинзависимые протеинкиназы
8. В клетку путем активного транспорта проходит:
- 1) глюкоза
  - 2) ион натрия
  - 3) вода
  - 4) углекислый газ
  - 5) стероидный гормон
9. Образование вторичной лизосомы (эндосомы) происходит при:
- 1) делении первичной лизосомы
  - 2) образовании эндоцитозного впячивания
  - 3) образовании эндоцитозной везикулы
  - 4) слиянии везикулы с первичной лизосомой
  - 5) делении везикулы
10. При семейной гиперхолестеринемии нарушается рецепция белка
- 1) альбумина
  - 2) Апо А I
  - 3) Апо А II
  - 4) Апо В-100
  - 5) Апо С
11. Из перечисленных жирных кислот наиболее интенсивно подвергается пероксидации
- 1) арахидоновая
  - 2) линоленовая
  - 3) линолевая
  - 4) олеиновая
  - 5) пальмитоолеиновая
12. Наиболее выраженной антиоксидантной активностью обладает сочетание препаратов:
- 1) Витамины В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, С
  - 2) Витамины В<sub>1</sub>, Р, Е
  - 3) Витамины А, Е, К
  - 4) α, β, γ-каротины
  - 5) Витамины С, Е, β-каротины
13. Увеличение тонуса гладкой мускулатуры связано с внутриклеточным возрастанием концентрации ионов
- 1) хлора
  - 2) калия
  - 3) магния
  - 4) кальция
  - 5) бикарбонатов

14. Инсулинорезистентность при сахарном диабете II типа может быть связана с

- 1) снижением числа рецепторов к инсулину
- 2) увеличением числа рецепторов к инсулину
- 3) нарушением пассивного транспорта инсулина в клетку
- 4) увеличением активности аденилатциклазы
- 5) снижением активности протеинкиназы

15. В составе фермента антиоксидантной защиты глутатионпероксидазы имеется микроэлемент.....

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ:

1 – 3

9 – 4

2 – периферическими

10 – 4

3 – 4

11 – 1

4 – 4

12 – 5

5 – 1

13 – 4

6 – 4

14 – 1

7 – 3

15 – селен

8 – 1

## ЛИТЕРАТУРА:

1. Авдонин П. В., Ткачук В. А. Рецепторы и внутриклеточный кальций. – М.: Наука, 1994.
2. Болдырев А. А. Введение в биохимию мембран. – М.: Высшая школа, 1986.
3. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: Наука, 1972.
4. Геннис Р. Биомембраны. – М.: Мир, 1997.
5. Ефимов А. С., Бездробный Ю. В. Структура и функции инсулиновых рецепторов. – Киев, 1987.
6. Кагава Ясуо. Биомембраны. – М.: Высшая школа, 1985.
7. Климов А. Н., Никульчева Н. Г. Обмен липидов, липопротеидов и его нарушения. – СПб: Питер Ком., 1999.
8. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека. – М.: Мир, 1993. – Том 2.
9. Постнов Ю.В. Первичная гипертензия как патология клеточных мембран. – М.: Медицина, 1987.
10. Свободные радикалы в биологии (под ред. У. Прайора). – М.: Мир., 1979.
11. Хорст А. Молекулярные основы патогенеза болезней. – М.: Медицина, 1982.
12. Эллиот В., Эллиот Д. Биохимия и молекулярная биология. – М.: Изд-во НИИ Биомедицинской химии РАМН. – 2000. – Т. I.

## СОДЕРЖАНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ .....	3
ТИПЫ БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕМБРАН И ИХ ФУНКЦИИ .....	4
ОСОБЕННОСТИ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА И СТРУКТУРЫ МЕМБРАН.....	5
ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МЕМБРАН. ....	10
ТРАНСПОРТ ВЕЩЕСТВ ЧЕРЕЗ МЕМБРАНУ .....	11
ПЕРЕДАЧА ИНФОРМАЦИИ В КЛЕТКУ .....	17
А. Аденилатциклазная система .....	18
Б. Инозитолфосфатидная система.....	20
ПРИМЕРЫ НАРУШЕНИЯ ФУНКЦИЙ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН.....	27
А. Усиление пероксидного окисления липидов мембран .....	27
Система антипероксидной защиты мембран .....	28
Б. Нарушение мембранного транспорта.....	32
Первичная гипертензия .....	32
Непереносимость углеводов .....	325
В. Нарушение рецепции .....	37
Сахарный диабет II типа .....	326
Семейная гиперхолестеринемия.....	328
ОБРАЗЦЫ ТЕСТОВЫХ ЗАДАНИЙ:.....	41
ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ: .....	43
ЛИТЕРАТУРА:.....	44